



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRAULICA E AMBIENTAL
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL – ÁREA SANEAMENTO AMBIENTAL

GEÍSA VIEIRA VASCONCELOS

**UTILIZAÇÃO DE BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM
RESÍDUOS DE ESGOTAMENTO DE CAMINHÃO LIMPA- FOSSA: LODO DE
FOSSA SÉPTICA.**

FORTALEZA

2012

GEÍSA VIEIRA VASCONCELOS

**UTILIZAÇÃO DE BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM
RESÍDUOS DE ESGOTAMENTO DE CAMINHÃO LIMPA- FOSSA: LODO DE
FOSSA SÉPTICA.**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Civil, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Engenharia Civil.

Área de concentração: Saneamento Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Stefanutti

FORTALEZA

2012

GEÍSA VIEIRA VASCONCELOS

**UTILIZAÇÃO DE BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM
RESÍDUOS DE ESGOTAMENTO DE CAMINHÃO LIMPA- FOSSA: LODO DE
FOSSA SÉPTICA.**

Dissertação submetida à
Coordenação do Curso de Pós-Graduação em
Engenharia Civil, da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Engenharia Civil – Área de
concentração: Saneamento Ambiental.

Dissertação defendida e aprovada em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ronaldo Stefanutti (orientador)

Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Dra. Ana Bárbara de Araújo Nunes

Universidade Federal do Ceará-UFC

Prof. Dr. Denis Miguel Roston

Universidade Estadual de Campinas (FEAGRI/UNICAMP)

Á DEUS, á minha família, ao meu esposo, aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Á Deus por sempre estar ao meu lado, decidindo junto á mim, as decisões certas a serem tomadas no decorrer da minha vida.

Aos meus pais, Vanderlina e Oscar, pelo apoio em todas as horas, por sempre ter me incentivado a estudar e sempre buscar o melhor, pelo amor que me ensinaram e pelos verdadeiros valores da vida.

Ao meu irmão, Oscar Junior, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e incentivando.

Ao meu esposo, Bruno, pelo seu imenso amor, apoio, incentivo, paciência e pelos grandes conselhos, que me ajudaram a concluir este trabalho.

Ao orientador, Prof. Dr. Ronaldo Stefanutti, pela orientação, incentivo e confiança.

A Prof. Dra. Ana Bárbara pelos ensinamentos, conselhos e orientação.

Ao Prof. Dr. Capelo e aos bolsistas do SELAQUA, por cederem o laboratório para os ensaios de toxicidade com o Microtox.

As minhas amigas Edlene, Clarise, Bárbara e Lívia pelos seus conselhos, grande amizade, agradável convivência durante esses anos e pela sua contribuição neste trabalho, com participação ativa no projeto.

Aos bolsistas do laboratório de saneamento (LABOSAN) UFC especialmente, Clarise, Bárbara, Claudio, Weudes, Vivi, Matheus, Germana, Gilmar pela maravilhosa convivência e momentos divertidos.

A Nathaniela do Laboratório de água (LANAGUA) pela a realização das análises de metais pesados.

Aos demais colegas do mestrado pela convivência e momentos divertidos.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) por todos os ensinamentos e pela agradável convivência durante o curso.

A CAGECE e aos seus funcionários pelo apoio na pesquisa e sua contribuição ativa no desenvolvimento do projeto especialmente ao Jorge, Pacífico e Ronner Gondin.

A FEAGRI (Laboratório de Saneamento) pela concessão das *Daphnia similis*.

A CAPES apoio financeiro para o desenvolvimento desta pesquisa.

E a todos que contribuíram de alguma forma na realização deste trabalho.

À FINEP pelo apoio financeiro ao desenvolvimento desta pesquisa.

“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar, é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver...”

(Martim Luther King)

RESUMO

O uso agrícola do lodo de esgoto é uma alternativa que apresenta vantagens ambientais quando comparada a outras práticas de destinação final e a sua aplicação no solo pode trazer benefícios à agricultura. O presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda de resíduos de caminhões limpa-fossa (lodo séptico), de diferentes residências através da utilização de bioensaios, com três organismos bioindicadores de toxicidade, os microcrustáceos (*Daphnia magna* e *Daphnia similis*) e bactérias (*Vibrio fischeri*) no Sistema Microtox®. Primeiramente foi feita a caracterização físico-química, microbiológica e metais pesados dos resíduos esgotados dos caminhões limpa-fossa e posteriormente foram realizados testes de toxicidade. As coletas foram realizadas quinzenalmente na ETE São Cristóvão/CAGECE, em Fortaleza-CE, onde as amostras foram levadas ao laboratório para realizar as análises de pH, temperatura, alcalinidade, condutividade elétrica, série de sólidos, DBO, DQO, série de nitrogênio, fósforo e coliformes termotolerantes. Observou-se que estes resíduos apresentaram concentrações bem mais elevadas que as de esgoto doméstico e também com características bastante variáveis. A fração volátil representa cerca de 65% dos sólidos totais e a relação SV/ST foi de 0,6 indicando uma possível estabilidade de acordo com a CONAMA 375/2006. Também foram realizadas análises de metais pesados (Cádmio, Cromo, Manganês, Níquel, Zinco, Chumbo, Ferro e Cobre) para verificar se tinha alguma correlação com a toxicidade. Todas as amostras esgotadas de caminhões limpa-fossa apresentaram toxicidade aguda para os três microorganismos *Daphnia magna*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* com média de CE50 igual a 54%, 41% e 52% respectivamente, sendo todos considerados tóxicos. Com relação à sensibilidade a *Daphnia similis* foi o organismo que apresentou maior sensibilidade para resíduos sépticos, pois quanto menor o CE50 mais tóxica é a amostra. Pelos resultados obtidos, os resíduos de caminhões limpa-fossa apresentaram toxicidade e não poderiam ser utilizados na agricultura sem um prévio tratamento para a remoção da toxicidade.

Palavras chave: Lodo de fossa séptica, Caracterização físico-química, Ensaios ecotoxicológicos, Microorganismos aquáticos.

ABSTRACT

A way to recycle the nutrients and organic matter from sewage sludge from septic tanks and cesspools would return those elements to biogeochemical cycles. The agricultural use of sewage sludge is an alternative that provides environmental benefits when compared to other final disposal practices and its application in soil can bring benefits to agriculture. The present study aimed to evaluate the acute toxicity of clean trucks (septic sludge) from different homes through the use of bioassays, with three bodies bioindicators of toxicity, the microcrustaceans (*Daphnia magna* and *Daphnia similis*) and bacteria (*Vibrio fischeri*) in the Microtox[®] System. First was made the physico-chemical, microbiological characterization and heavy metals waste exhausted clean trucks and trench-toxicity tests were carried out at a later date. The collections were held fortnightly in the ETE São Cristóvão, where samples were brought to the laboratory to perform the analyses of pH, alkalinity, temperature, electrical conductivity, solids, BOD, COD, nitrogen, phosphorus and termotolerantes coliforms. It was noted that such waste presented well concentrations higher than those of domestic sewage and also features plenty of variables. The volatile fraction accounts for around 65% of total solids and SV/ST was 0.6, indicating that the septic tanks and septic sludge can be considered stable according to the CONAMA 375/2006. Were also conducted analyses of heavy metals (Cadmium, chromium, manganese, nickel, zinc, lead, iron and copper) to verify that had some correlation with toxicity. All samples clean truck depleted-fossa showed acute toxicity for microorganism three *Daphnia magna*, *Daphnia similis*, and *Vibrio fischeri* averaging equal to 54%, EC50 41% 52% respectively, all of which are considered toxic. With respect to sensitivity to *Daphnia similis* was the body that has greater sensitivity to septic waste, because the lower the EC50 is more toxic to sample. By the results obtained, the clean trucks waste-fossa are toxic and could not be used in agriculture without a prior treatment for the removal of toxicity.

Keywords: Septic tank sludge, Physico-chemical characterization, ecotoxicological tests, aquatic microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Percentual de domicílios, por Grandes Regiões, segundo a característica de esgotamento sanitário – 2009.....	19
Figura 2 - Esquema de um tanque séptico	23
Figura 3 - Etapas da digestão anaeróbia.....	25
Figura 4 - Ciclo de reprodução da <i>Daphnia similis</i>	36
Figura 5 - Morfologia da <i>Daphnia similis</i> cultivada no Labosan, UFC.....	37
Figura 6 - Microcrustáceo <i>Daphnia magna</i> cultivado no Labosan – UFC.....	38
Figura 7 - Colônias de fotobactérias <i>Vibrio fischeri</i>	48
Figura 8- Lagoas de estabilização da ETE São Cristóvão.....	50
Figura 9 - Ilustração de um caminhão limpa fossa descarregando na estação e a realização da coleta.....	51
Figura 10 - Etapas da pesquisa.....	52
Figura 11 - Amostra para teste de toxicidade. A: amostra em estado bruto, B: amostra ao passar pelo processo de centrifugação.....	55
Figura 12 – Lotes de <i>Daphnias</i> acondicionadas na câmara de germinação.....	56
Figura 13 – Cultivo da alga <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> no Labosan.....	58
Figura 14 – Teste de toxicidade aguda com as <i>Daphnias</i>	61
Figura 15 – Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnias</i> . A: Preparação do teste de toxicidade aguda, B: Teste acondicionado na câmara de germinação.....	62
Figura 16 - Microtox utilizado nos testes com a bactéria <i>Vibrio fischeri</i>	63
Figura 17 - Esquema do procedimento do teste de toxicidade aguda com a bactéria <i>Vibrio fischeri</i>	65
Figura 18 - Teste de normalidade Shapiro-Wilk para alcalinidade, condutividade elétrica, pH e temperatura.....	68
Figura 19 - Teste de normalidade Shapiro – Wilk ($p < 0,05$).....	69
Figura 20 - Box-plot com percentis de 25% e 75% para pH e temperatura.....	71
Figura 21 - Box-plot com percentis de 25% e 75% para condutividade elétrica e alcalinidade em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	72
Figura 22 – Variação das amostras de resíduos sépticos para DQO e DBO em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	74

Figura 23 – Variação das amostras de resíduos sépticos para ST, STV, STF em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	76
Figura 24 – Variação das amostras de resíduos sépticos para SST, SSV, SSF em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	76
Figura 25 – Frações voláteis e fixas dos sólidos em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	77
Figura 26– Variação das concentrações de amônia, NO e NTK em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	78
Figura 27 - Frações do nitrogênio em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	79
Figura 28 - Box-plot com percentis de 25% e 75% para o fósforo em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	80
Figura 29 – Variação das concentrações de coliformes totais e fecais em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	82
Figura 30- Carta controle de sensibilidade com o organismo <i>Daphnia magna</i> exposta ao dicromato de potássio em 24h de exposição.....	85
Figura 31- Carta controle de sensibilidade com o organismo <i>Daphnia similis</i> exposta ao dicromato de potássio em 48h de exposição.....	85
Figura 32- Carta controle de sensibilidade da bactéria <i>Vibrio fischeri</i> exposta ao sulfato de zinco heptahidratado em 30 minutos de exposição.....	86
Figura 33– Média de CE50 para <i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia similis</i> e <i>Vibrio fischeri</i>	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Níveis de atendimento com água e esgoto dos prestadores de serviços participantes do SNIS em 2009, segundo a região geográfica e Brasil.....	20
Tabela 2 - Características de resíduos despejados por caminhões limpa-fossas, na ETE-Jarivatuba, em Joinville.....	29
Tabela 3 - Classificação da toxicidade aguda segundo BULICH.....	34
Tabela 4 – Teste de toxicidade padronizado pela ABNT e CETESB.....	45
Tabela 5 – Limite máximo de toxicidade aguda para <i>Daphnia magna</i> e <i>Vibrio fischeri</i> em efluentes de diferentes categorias no Estado de Santa Catarina.....	46
Tabela 6 – Parâmetros realizados para caracterização de amostras de lodo.....	53
Tabela 7 – Requisitos para água de cultivo e diluição.....	55
Tabela 8 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade aguda.....	60
Tabela 9 - Nível de confiança e de significância das variáveis, temperatura, condutividade pH e alcalinidade.....	67
Tabela 10 – Nível de confiança e de significância dos dados analisados.....	69
Tabela 11 – Estatística descritiva para as variáveis: alcalinidade total, pH, temperatura e condutividade elétrica em mg/L de amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	73
Tabela 12 – Estatística Descritiva para as variáveis DQO e DBO em mg/L de amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.....	73
Tabela 13 – Relação DQO/DBO encontrados de estudos de alguns autores de resíduos sépticos.....	73
Tabela 14 – Estatística descritiva para as serie de sólidos totais e suspensos.....	75
Tabela 15 – Estatística descritiva para série de nitrogênio.....	78
Tabela 16 – Comparação de diversos autores para caracterização de lodos de tanques sépticos.....	81
Tabela 17 - Resultados das médias para coliformes totais e fecais.....	81
Tabela 18 – Concentrações de metais pesados de diversos autores.....	83
Tabela 19 – Média das variáveis dureza, OD e pH.....	86
Tabela 20 – Teste de toxicidade com o organismo <i>Daphnia similis</i> com duração de 48h.....	87
Tabela 21 – Teste de toxicidade com o organismo <i>Daphnia magna</i> com duração de 48h.....	88
Tabela 22 – Teste de toxicidade com o organismo <i>Vibrio fischeri</i> com duração de 15 minutos.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CAGECE	Companhia de Água e Esgoto do Ceará
CEMA	Conselho Estadual de Meio Ambiente
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CE50	Concentração Efetiva Mediana
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DEHA	Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DER	Diluição do efluente no corpo receptor, em %
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
FATMA	Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina
FT	Fator de Toxicidade
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
IAP	Instituto Ambiental do Paraná
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LABOSAN	Laboratório de Saneamento
NBR	Norma Brasileira
NTK	Nitrogênio Total Kjeldahl
OD	Oxigênio Dissolvido
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNAD	Pesquisa Nacional de Amostras por Domicílios
PNSB	Pesquisa Nacional de Saneamento Básico

RMF	Região Metropolitana de Fortaleza
SNIS	Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento
ST	Sólidos Totais
SV	Sólidos Voláteis
UFC	Universidade Federal do Ceará
UT	Unidade tóxica

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 OBJETIVOS DA PESQUISA.....	17
2.1 GERAL.....	17
2.2 ESPECÍFICOS.....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 PANORAMA DO SANEAMENTO BÁSICO NO BRASIL.....	18
3.2 TANQUES SÉPTICOS E FOSSAS SÉPTICAS	21
3.3 DIGESTÃO ANAERÓBIA	22
3.4 EFICIÊNCIAS DOS TANQUES E FOSSAS SÉPTICAS.	25
3.5 CARACTERÍSTICAS DOS RESÍDUOS ESGOTADOS DOS CAMINHÕES “LIMPA FOSSA”.	26
3.6 ECOTOXICOLOGIA	31
3.6.1 Ensaio Ecotoxicológico.....	31
3.6.2 Organismo-teste.....	35
3.6.3 <i>Daphnia similis</i>	35
3.6.4 <i>Daphnia magna</i>	38
3.6.5 <i>Bactéria marinha Vibrio fischeri</i>	40
3.6.6 Sistema Microtox®.....	42
3.6.7 Teste de sensibilidade – Carta Controle	43
3.6.8 Legislação aplicada a ecotoxicologia.....	44
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1 LOCAL DA COLETA	49
4.2 METODOLOGIA DE COLETA	50
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS SÉPTICOS DOS CAMINHÕES LIMPA-FOSSA	52
4.4 METODOLOGIA DOS TESTES DE TOXICIDADE.....	54
4.4.1 Cultivo dos microcrustáceo <i>Daphnia similis</i> e <i>Daphnia magna</i>	55
4.4.2 Alimentação das <i>Daphnias</i>	57
4.4.3 Testes de sensibilidade – Carta Controle.....	58
4.4.4 Ensaio de toxicidade aguda com <i>Daphnias</i>	59
4.4.5 Ensaio de Toxicidade Aguda com <i>Vibrio Fischeri</i>	62

4.5 ESTUDO ESTATÍSTICO.....	65
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
5.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS DA CARACTERIZAÇÃO DOS RESÍDUOS.....	67
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	70
5.2.1 <i>Alcalinidade total, pH, temperatura e condutividade elétrica.</i>	70
5.2.2 <i>DQO e DBO</i>	73
5.2.3 <i>Sólidos</i>	74
5.2.4 <i>Série de Nitrogênio e fósforo</i>	77
5.3 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA E METAIS PESADOS.	81
5.3.1 <i>Coliformes termotolerantes</i>	81
5.3.2 <i>Caracterização de metais pesados</i>	82
5.4 RESULTADOS ECOTOXICOLÓGICOS.....	84
5.4.1 <i>Ensaio de sensibilidade - Carta Controle</i>	84
5.4.2 <i>Ensaio de toxicidade aguda</i>	86
6 CONCLUSÕES.....	92
7 RECOMENDAÇÕES.....	94
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
ANEXO A - ÁGUA DE CULTIVO E DE DILUIÇÃO PARA <i>DAPHNIA MAGNA</i>	102
ANEXO B – PREPARO DO MEIO L.C OLIGO.....	104
ANEXO C – ÁGUA CULTIVO PARA A <i>DAPHNIA SIMILIS</i>	105

1 INTRODUÇÃO

À medida que a humanidade aumenta sua capacidade tecnológica de intervir na natureza, para satisfazer suas necessidades e desejos crescentes, surgem conflitos quanto ao uso do espaço, dos recursos e da disposição dos resíduos ao meio ambiente. Os sinais da poluição tornam-se mais evidentes com o aumento populacional, tendo como uma das consequências doenças de veiculação hídricas associadas à falta de saneamento básico. A ausência, total ou parcial de serviços públicos de esgotos sanitários nas áreas urbanas e rurais exige a implantação de algum meio de disposição dos esgotos locais, com principal objetivo de evitar a contaminação do solo e da água. O tratamento de esgoto é importante não só para o reaproveitamento da água, mas também pela redução de sua ação como forte agente poluente de rios, lagos e mares. Na saúde pública evita doenças como hepatite, cólera e leptospirose contribuindo assim para a saúde dos cearenses e a preservação do meio ambiente.

Uma maneira simples e barata para a disposição do esgoto principalmente em áreas suburbanas e rurais onde a rede coletora não abrange os serviços públicos de esgotos sanitários é o sistema de fossa séptica onde é feito o tratamento primário de esgoto. Uma alternativa interessante seria dispor esses resíduos de caminhão limpa-fossa no solo para uso agrícola, entretanto, o material necessitaria de estudos preliminares de caracterização físico-química, microbiológica, ecotoxicológica e posteriormente um pós-tratamento para remoção de patógenos.

Também se faz necessário o teste de toxicidade do lodo de fossa séptica para avaliar se os resultados de toxicidade tem alguma correlação com os resultados de metais pesados e compostos, fazendo ensaios de ecotoxicidade com microrganismos, *Daphnias similis*, *Daphnia magna* e a bactéria *Vibrio fischeri*. Após o estudo, o lodo seria apto ou não para ser disposto no solo como uma forma de reciclar os nutrientes e a matéria orgânica, retornando os elementos aos ciclos biogeoquímicos. O lodo a ser destinado ao uso agrícola, como fertilizante ou condicionador de solo, deve atender as regras definidas pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 375/2006.

2 OBJETIVOS DA PESQUISA

2.1 Geral

Avaliar a toxicidade do lodo de fossa séptica através de microorganismos aquáticos, a fim de aplicá-lo na agricultura como composto estável, propondo atividades mitigadoras para os seus possíveis impactos.

2.2 Específicos

- Avaliar a toxicidade do lodo de fossa séptica através da realização de testes agudos com os microorganismos aquáticos *Daphnia Similis e D. magna*
- Avaliar a toxicidade do lodo de fossa séptica através da realização de testes agudos com a bactéria marinha luminescente – *Vibrio Fischeri* (sistema Microtox®);
- Caracterização dos parâmetros físico-químicos em lodo de fossa séptica coletados na região metropolitana de Fortaleza (RMF);
- Caracterização dos parâmetros microbiológicos (coliformes termotolerantes) em lodo de fossa séptica;
- Caracterização dos metais pesados em lodo de fossa séptica;
- Avaliar o produto final quanto a sua adequação para aplicação na agricultura mediante a CONAMA 375/2006 relacionando os parâmetros como a relação SV/ST, metais pesados (cádmio, cromo, manganês, níquel, zinco, chumbo) e coliformes termotolerantes..

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Panorama do Saneamento Básico no Brasil

No século XXI, o mundo está enfrentando uma crise ambiental em termos de disponibilidade e qualidade da água, causada pelo crescimento contínuo da população, industrialização, práticas de produção de alimentos e a busca de uma maior qualidade de vida. A rápida industrialização, urbanização, e crescimento populacional resultaram no aumento dos volumes de águas residuais domésticas e industriais não tratadas sendo descarregadas em rios e canais e, conseqüentemente, ocorrendo à deterioração da qualidade de águas superficiais e subterrâneas.

A oferta de saneamento básico, principalmente o esgotamento sanitário é uma ferramenta indispensável em termos de qualidade de vida, pois sua ausência acarreta poluição dos recursos hídricos, trazendo conseqüências na saúde da população, principalmente o aumento da mortalidade infantil. Segundo a Pesquisa Nacional de Amostras por Domicílios de 2009 (PNAD), disponibilizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010), 85,3% dos domicílios têm acesso à rede geral de abastecimento de água e 89,4% tem o serviço coleta de lixo. Por outro lado, em relação ao serviço de rede coletora ou fossa séptica ligada a rede foi de apenas 59,1% dos domicílios atendidos, apresentando uma precariedade em relação aos outros setores do saneamento, demonstrando que estudos na área de saneamento são de grande relevância, pois esses constituem a representação básica de uma moradia digna.

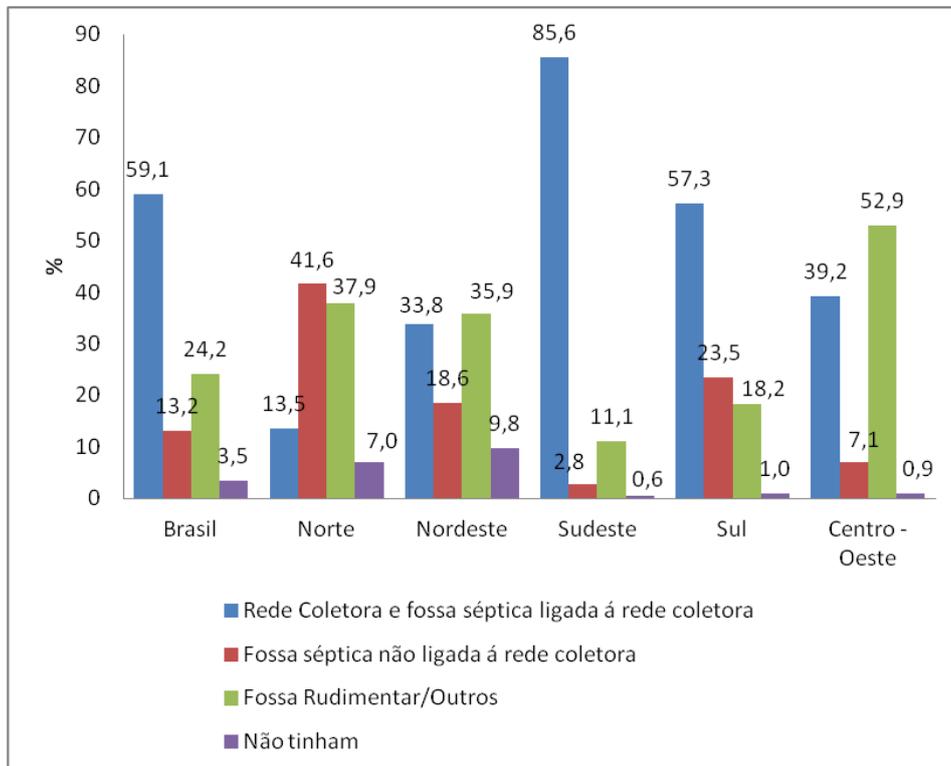
Segundo a pesquisa supracitada as regiões Norte e Nordeste foram as que apresentaram as menores parcelas de domicílios com acesso a rede coletora de esgotamento sanitário e fossa séptica ligada à rede coletora com 13,5% e 33,8% respectivamente. Já as regiões Sudeste e Sul apresentaram maiores parcelas de domicílios atendidos com o serviço de esgotamento sanitário 85,6% e 57,3% respectivamente. E a região Centro – Oeste ficou com 39,2% dos domicílios com acesso a rede coletora de esgotamento sanitário e fossa séptica ligada á rede coletora.

De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico de 2008 (PNSB), a situação é bastante preocupante, pois foi verificada a falta de esgotamento sanitário (incluindo fossa séptica ligada rede coletora), ou outros sistemas de esgoto em muitos municípios, agravando mais ainda a situação do esgotamento sanitário.

O contingente populacional sem a cobertura desse serviço, considerando-se apenas os municípios sem rede coletora, era de aproximadamente 34,8 milhões de pessoas, ou seja, em 2008, cerca de 18% da população brasileira estava exposta ao risco de contrair doenças em decorrência da inexistência de rede coletora de esgoto.

Uma solução alternativa adotada para suprir a inexistência desse serviço foi à construção de fossas sépticas, que apresentou um aumento em relação ao levantamento realizado em 2000. Esse tipo de solução, ainda que longe do desejável, implicou na redução do lançamento dos dejetos em valas a céu aberto, fossas secas e em corpos d'água, o que ameniza os impactos ambientais decorrentes da falta de rede coletora de esgoto. Conforme a Figura 1 o Nordeste é a região onde se tem a maior proporção de municípios onde não se tem nenhum tipo de esgotamento sanitários com 9,8%.

Figura 1 – Percentual de domicílios, por Grandes Regiões, segundo a característica de esgotamento sanitário – 2009.



Fonte: PNAD 2009

Outros dados sobre esgotamento sanitário e abastecimento de água disponibilizado pelo Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS) 2009, são apresentados na Tabela 1, onde se observa que o índice de atendimento para coleta de esgoto é de 52%, só que somente 37,9% dos esgotos gerados são tratados, o que impacta negativamente a qualidade dos nossos recursos hídricos.

Tabela 1 – Níveis de atendimento com água e esgoto dos prestadores de serviços participantes do SNIS em 2009, segundo a região geográfica e Brasil.

Regiões	Índice de Atendimento (%)				Índice de tratamento dos esgotos gerados (%)
	Água		Coleta de esgotos		
	Total	Urbano	Total	Urbano	Total
Norte	58,5	73,5	6,2	7,7	15,7
Nordeste	69,7	91,4	19,7	26,5	33,0
Sudeste	90,6	97,7	68,2	73,7	41,3
Sul	85,9	97	34,4	40,5	32,9
Centro-Oeste	89	96,7	46,5	51,4	44,2
Brasil	81,7	95,2	44,5	52,0	37,9

Fonte: SNIS, 2009.

Os índices médios nacionais de atendimento da população total (urbana + rural) identificados pelo SNIS em 2009 foram de 81,7% para abastecimento de água e 44,5% para coleta de esgotos. Considerando somente a população urbana, os dados evidenciam um elevado atendimento pelos serviços de água, com índice médio nacional igual a 95,2%, enquanto que na coleta de esgotos esse índice foi de 52,0%.

Em relação aos indicadores médios nacionais de esgotamento sanitário em comparação com os índices de 2008, houve uma oscilação positiva tanto na coleta quanto no tratamento dos esgotos. Em relação ao tratamento de esgoto, que passou de 34,6% para 37,9%, devido ao crescimento geral em todas as regiões do país.

3.2 Tanques sépticos e Fossas sépticas

Nos países em desenvolvimento a população vem crescendo de maneira muito acelerada, de forma que a implantação dos serviços públicos de saneamento não tem acompanhado tal crescimento. Isso permite deduzir que as soluções individuais de disposição de esgotos continuarão sendo amplamente adotadas (JORDÃO; PESSÔA, 2005).

O tanque séptico foi concebido por Jean Louis Mouras, na França por volta do ano de 1872, quando percebeu que o volume de sólidos acumulado por cerca de 12 anos em um tanque de alvenaria construído por ele para receber os esgotos de sua residência antes de jogá-los na fossa absorvente, era muito menor do que ele imaginara (ANDRADE NETO, 1997). Em contrapartida aos tanques sépticos, as fossas não possuem suas paredes impermeabilizadas. Nela, o esgoto é disposto e infiltrado no solo conforme entra na fossa, funcionando como sumidouro. De acordo com a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA, 2006) em “condições especiais o esgoto doméstico poderá ser ligado diretamente a um sumidouro ou poço absorvente”.

A fossa séptica foi definida por Batalha (1989), como uma unidade de sedimentação e digestão, de escoamento horizontal e contínuo. Esta constituiu o primeiro componente para disposição de águas residuárias domésticas, muito utilizado em locais onde não se dispõe de rede de esgotos. Pode ser definida também como uma câmara construída com o propósito de reter os esgotos sanitários por um período de tempo, para ocorrer à sedimentação dos sólidos. (JORDÃO; PESSÔA, 2005).

Segundo Jordão e Pessôa (2005), as fossas sépticas têm como principal objetivo impedir a contaminação: do solo, da água de subsolo usada para consumo humano, das praias, rios entre outros. Von Sperling (2005) afirma que estas são também uma forma de tratamento a nível primário, e suas variantes, como os tanques de Imhoff, são basicamente decantadores, os sólidos sedimentáveis são removidos para o fundo, permanecendo nestes um tempo longo e suficiente (alguns meses) para a sua estabilização que se dá em condições anaeróbias.

O lodo retirados e descartado e tanques sépticos geralmente apresenta riscos ambientais e considerando que o destino deste produto na maioria das vezes não apresenta segurança ambiental entende-se que a sua gestão deva ser realizada com o objetivo de evitar riscos à saúde (BELLI FILHO *et.al.*, 2004).

De acordo com Andrade Neto *et al.* (1999) os principais fenômenos ativos sobre o esgoto são decorrentes da ação física que é a decantação do líquido com sedimentação dos

sólidos e flotação. A decantação consiste na separação das fases líquida, sólida e gasosa por diferença de massa específica.

A sedimentação é o processo basicamente de deposição dos sólidos por gravidade e a flotação ocorre devido ao desprendimento de pequenas bolhas de gases, produzidas na digestão anaeróbia, que aceleram a ascensão de partículas sólidas.

Para Andrade Neto *et al.* (1999) parte dos sólidos sedimentados e o lodo ativo produzido, misturam-se parcialmente com a fase líquida, devido à turbulência de fluxo e, principalmente, às mudanças de densidade do lodo sedimentado e da espuma, em decorrência das várias fases da digestão anaeróbia, e às correntes de convecção térmica e aos gases ascendentes. Esse fato aumenta a eficiência da unidade na remoção de matéria orgânica dissolvida.

Withers, Jarvie e Stoate (2011) ao fazer um estudo no Reino Unido dos sistemas de tanque séptico e o seus impactos na eutrofização ao redor de uma típica aldeia inglesa, concluíram que os efluentes gerados nos tanques são uma potencial fonte de emissões de nutrientes nas águas superficiais, onde as concentrações de nitrogênio e fósforo típicos de detergente e insumos domésticos foram dominantes (70-85% do total) e a média das concentrações de nitrito foi acima dos níveis considerados prejudiciais para os peixes.

Os sistemas de tanque séptico são considerados um meio eficaz de tratamento de águas residuais em zonas rurais desde que sejam, localizados e mantidos de forma satisfatória. De acordo com Mara (2004), a digestão anaeróbia de matéria orgânica (em grande parte nas fezes) ocorre dentro do tanque e o efluente descarregado é tratado pelo solo.

Meile *et al.* (2010) avaliou o papel dos sistemas de fossa sépticas na cidade de Geórgia, EUA, e detectou que os sistemas de fossa são potenciais fontes de nitrogênio, que são as principais causas da eutrofização, alterando as taxas e os tipos de produtores primários como, por exemplo, o fitoplâncton.

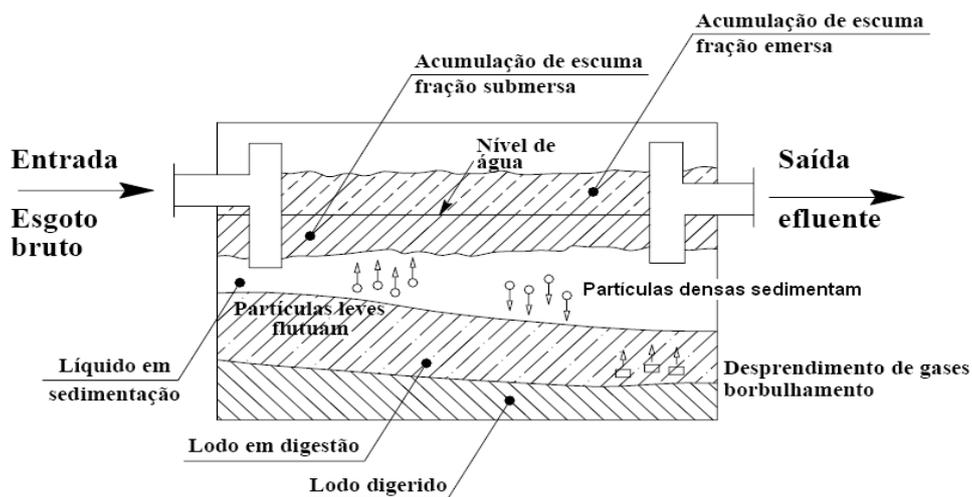
3.3 Digestão anaeróbia

A digestão anaeróbia é um processo bioquímico que ocorre na ausência de oxigênio molecular, no qual um consórcio de diferentes tipos de microrganismo promove a transformação de compostos orgânicos complexos como carboidratos, lipídios e proteínas, em produtos mais simples como metano e gás carbônico, envolvendo várias reações seqüenciais. Os microrganismos envolvidos na digestão anaeróbia são muito especializados e cada grupo atua em reações específicas (METCALF; EDDY, 1991).

De acordo com Batalha (1989) a digestão anaeróbia acontece com maior intensidade principalmente no lodo, onde ocorre a maior atividade de transformação da matéria orgânica do que na fração líquida, onde o processo biológico é de pouca importância. Os sólidos sedimentáveis e os lodos parcialmente decompostos acumulam-se no fundo da fossa, onde ficam retidos.

Esta ação possui como agentes, as bactérias facultativas ou anaeróbias, reduzindo as substâncias orgânicas a formas pouco oxidadas com dissolução ou liquefação de alguns sólidos. Ocorre nesta fase o desprendimento de gases, que contêm principalmente metano (ação das arqueas) e gás carbônico, podendo haver, ainda, a geração de pequenas quantidades de gás sulfídrico e de outros gases como mostra a Figura 2.

Figura 2 – Esquema de um tanque séptico



Fonte: ABNT, NBR 7229/1993.

A digestão anaeróbia de material orgânico complexo envolve quatro etapas diferentes no processo global de conversão: hidrólise, acidogênese, acetogênese, metanogênese como é mostrado na Figura 3. Na hidrólise o material orgânico particulado é convertido em compostos dissolvidos de menor peso molecular, através da ação de exoenzimas que são excretadas pelas bactérias fermentativas, gerando compostos que possam ser assimilados pelos microrganismos mais simples. Assim, as proteínas são transformadas em aminoácidos, os carboidratos se transformam em açúcares solúveis e os lipídios são convertidos em ácidos graxos de cadeia longa e glicerina. Segundo Van Haandell e Lettinga

(1994), os principais fatores determinantes na parte de hidrólise na digestão anaeróbia são pH, temperatura, tempo de retenção, tamanho e distribuição das partículas.

No processo de acidogênese os compostos dissolvidos gerados na etapa anterior (hidrólise) são absorvidos nas células das bactérias fermentativas e, após a acidogênese, excretadas como substâncias simples tais como ácidos graxos voláteis de cadeia curta, alcoóis, ácido láctico e compostos minerais como CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S , entre outros.

Na acetogênese ocorre a conversão dos produtos da acidogênese em compostos que formam os substratos para produção de metano: acetato, hidrogênio e dióxido de carbono. E a metanogênese há a formação de metano através de duas rotas: a partir da redução de ácido acético pelas bactérias acetotróficas ou a partir da redução de dióxido de carbono pelas bactérias hidrogenotróficas.

A metanogênese é o processo final de degradação do substrato e limita a velocidade do processo de digestão como um todo, embora a temperaturas abaixo dos $20^\circ C$ a hidrólise possa se tornar também limitante (GUJER; ZEHNDER, 1983). O metano é produzido pelas bactérias acetotróficas a partir da redução de ácido acético ou pelas bactérias hidrogenotróficas a partir da redução de dióxido de carbono. A Equação 1 e 2 mostra as seguintes reações catabólicas:

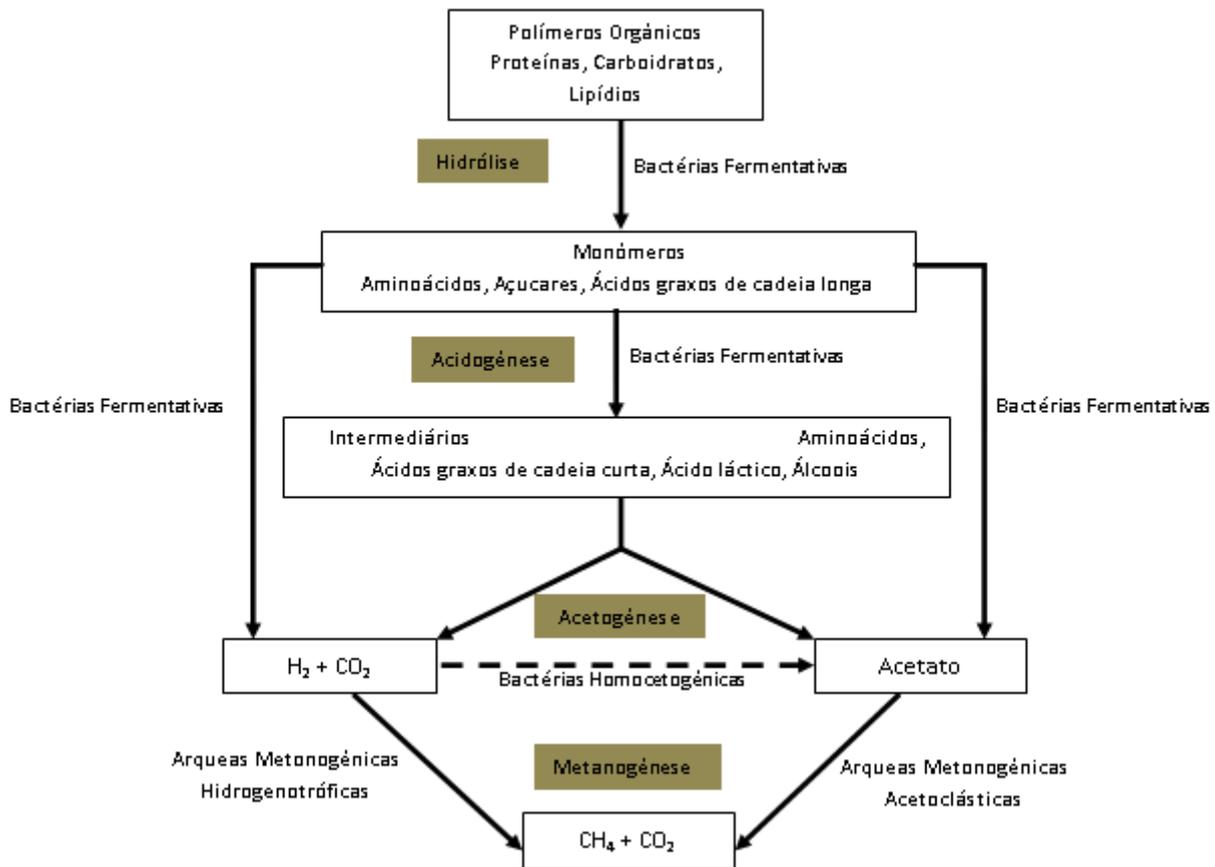
- Metanogênese acetotróficas ou acetoclástica:



- Metanogênese hidrogenotróficas:



Figura 3 – Etapas da digestão anaeróbia



Fonte: Van Haandell e Lettinga, 1994.

3.4 Eficiências dos tanques e fossas sépticas.

A eficiência de fossas sépticas é comumente medida em função de dois parâmetros utilizados: Sólidos em Suspensão (SS) e Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) (JORDÃO E PESSOA, 2005). A eficiência depende de vários fatores, dentre eles a capacidade de reter os sólidos sedimentáveis, período de limpeza, melhor controle operacional, temperatura, geometria.

Segundo Jordão e Pessoa (2005) a eficiência dos tanques sépticos está intimamente vinculada aos recursos humanos e materiais dos seus usuários, podendo ter sua eficiência afetada segundo os seguintes fatores:

- Negligência dos usuários em harmonia com a ausência de fiscalização dos órgãos públicos responsáveis;

- b) Dificuldade de locais adequados à disposição do material sólido removido (lodo);
- c) Incapacidade material para a execução dos serviços de limpeza periódica do material acumulado nos tanques sépticos (lodo);
- d) Aversão natural do manuseio da matéria fecal;
- e) Desconhecimento comum da obrigatoriedade de evitar poluição.

No Brasil os sistemas anaeróbios encontram uma grande aplicabilidade com diversas características, dentre elas, o baixo custo e simplicidade operacional, aliadas a boas condições ambientais no Brasil como elevadas temperaturas. Algumas vantagens dos sistemas anaeróbios são (CHERNICHARO, 2001):

- a) Baixa produção de sólidos;
- b) Baixo consumo de energia e baixos custos operacionais;
- c) Produção de metano, um gás combustível de elevado teor calorífico;
- d) Tolerância a elevadas cargas orgânicas;
- e) Baixo consumo de nutrientes.

3.5 Características dos resíduos esgotados dos caminhões “limpa-fossa”.

A composição do esgoto varia em função do local de origem, ou seja, se proveniente de uma área tipicamente residencial ou tipicamente industrial, e da época do ano entre outros fatores. É geralmente composto de 99,99% de água e 0,01% de sólidos. Os sólidos são 70% orgânicos (proteínas, carboidratos e lipídeos) e 30% inorgânicos como areia, sais e metais (MELO; MARQUES, 2000).

O lodo gerado a partir de fossas ou tanques sépticos é composto por diferentes organismos e substâncias, dependendo do efluente tratado no sistema. Cerca de 75% dos sólidos são constituídos de matéria orgânica degradável, com grande quantidade de microrganismos provenientes de fezes humanas e com probabilidade de ocorrência de patógenos. A adição de efluentes industriais poderá conter metais tóxicos e outros componentes distintos daqueles decorrentes do esgoto doméstico (METCALF; EDDY, 1991).

São diversos fatores que determinam as propriedades físicas dos resíduos esgotados dos caminhões limpa-fossa, dentre eles: o tamanho do sistema, hábitos dos usuários, frequência do esgotamento, resíduos orgânicos de cozinha, temperatura, desempenho de fossa e recebimento de águas residuárias cinzas e negras (HEINSS et al., 1999; FORREST; ASSOCIATES, 2005 *apud* SANTOS, 2009).

Os resíduos esgotados apresentam altos níveis de gordura, pedras e cabelo, tornando difícil a sua caracterização físico-química. Os resíduos esgotados são de natureza anaeróbia e libera gases odoríferos. O material também contém parasitas, vírus e bactérias que podem causar doenças (FORREST; ASSOCIATES, 2005 *apud* SANTOS, 2009).

Leite *et al.* (2006) estudou alternativas para processamento de lodos de fossa séptica doméstica visando sua disposição final ambientalmente segura e economicamente viável, com base na sua quantificação e caracterização. Esse estudo foi realizado na Região Metropolitana de Curitiba-PR, onde foram coletadas 20 amostras aleatórias provenientes de caminhões de resíduos sépticos que chegavam à ETE de Belém no período de 5 a 11 de julho de 2005.

O estudo realizado por Meneses (2001) verificou as características dos resíduos de fossa séptica de Natal-RN. Em sua pesquisa, ele determinou que 55,5% dos sólidos estão na forma volátil e 55% são suspensos. O nitrogênio amoniacal corresponde a cerca de 72% do nitrogênio total. Percebe-se que todos os parâmetros apresentaram grande variabilidade, condizendo com o verificado para as demais referências estudadas.

Tachini *et al.* (2006), ao caracterizar lodos de tanques sépticos da cidade de Blumenau- SC, de 12 carros limpa-fossa, atestam que 60% dos sólidos presentes são orgânicos. As variações de DBO e DQO foram justificadas: baixas concentrações se referem aos resíduos sobrenadantes ou resíduos recentes; altas concentrações se devem a elevada concentração de material sólido de tanques com intervalos de limpeza mais longos. A maior parte da matéria orgânica está associada com sólidos em suspensão (94,7%). Para a maioria das variáveis e ainda verificou a discrepância entre valores mínimos e máximos.

Machado Júnior *et al.* (2008) fez um estudo na cidade de Tubarão - SC analisando amostras originalmente de carregamentos distintos de resíduos sépticos por caminhões limpa fossa de 5 empresas coletoras da região e encontrou valores de DBO = 3500mg/L; DQO = 19.603 mg/L; ST = 24.902mg/L; Nitrogênio amoniacal = 63mg/L.

Santos (2009) caracterizou o conteúdo de fossas e tanques séptico residenciais na cidade de Natal para o conhecimento sobre o tratamento desses resíduos, tendo como metas específicas desenvolver e fabricar um amostrador capaz de coletar uma amostra representativa

de toda a coluna dos tanques sépticos e fossas, que contemple a espuma da superfície, o líquido clarificado e o lodo presente no fundo; comparar o conteúdo dos tanques com os das fossas; comparar o conteúdo com os resíduos dos caminhões.

Com um amostrador desenvolvido foram coletadas amostras do interior de 14 tanques sépticos e 10 fossas em bairros de Natal. O conteúdo dos 24 sistemas obteve medianas para temperatura, pH, condutividade elétrica (CE), óleos e graxas, sólidos totais (ST), sólidos suspensos totais (SST) e sedimentáveis de 28,0°C; 6,95; 882 $\mu\text{S}/\text{cm}$; 75,2 mg/L; 10.169 mg/L; 6.509 mg/L e 175 mL/L respectivamente; 111,0 mgN/L para amônia, 130,5 mgN/L para nitrogênio orgânico, 0,2 mgN/L para nitrito, 0,4 mg/L para nitrato; 8.935 mgO₂/L para DQO, 29,2 mgP/L para fósforo total.

Um estudo realizado por Rocha e Sant'ana (2005) na Estação de Tratamento de Esgotos Jarivatuba (ETE-Jarivatuba), localizada em Joinville, em parceria com a CASAN (Companhia Catarinense de Água e Saneamento) observou que a ETE tem recebido despejos de caminhões limpa-fossas sem controle de suas cargas. Estes despejos são destinados a um tratamento composto por gradeamento, desarenador e leito de secagem, sendo que o efluente segue para o processo de tratamento por lagoas de estabilização, que trata ainda o esgoto proveniente de aproximadamente 16% da população total da cidade de Joinville.

Foi solicitado um laudo de cada empresa com a caracterização do lodo que estava sendo despejado. As características dos lodos amostrados nos caminhões limpa-fossas (Tabela 2) são muito variáveis, dificultando uma operação eficiente do sistema de tratamento do lodo. O controle da origem das cargas dos caminhões limpa-fossas é imprescindível para o bom funcionamento de todo o sistema de tratamento do lodo, pois evita que eventuais borras químicas tóxicas atinjam o tratamento biológico.

Tabela 2 - Características de resíduos despejados por caminhões limpa-fossas, na ETE- Jarivatuba, em Joinville.

PARÂMETROS	EMPRESAS LIMPA-FOSSAS					
	A	B	C	D	E	F
pH	8,3	6,64	6,69	5,44	7,1	8,54
DQO (mg/L)	2.995	144	19.830	9.180	7.320	8.000
DBO (mg/L)	784	60	8.600	1.768	4.200	1.560
Fósforo (mg/L)	24,9	1,7	444	8,7	32,0	158,8
Sólidos Sedimentáveis (mg/L)	120	0,8	90	1	310	580
Sólidos Voláteis (mg/L)	5,43	535	3.100	5,8	770	1,3
Sólidos Fixos (mg/L)	6,61	218	5.060	4,36	70	7,4
Sólidos Suspensos (mg/L)	11,2	110	1.750	850	230	1,7
Sólidos Totais (mg/L)	12,04	753	8.160	10,24	840	8,7
Alcalinidade Total (mg/L)	1,375	42,3	1.250	6.105	562	2.560
Óleos e Graxas (mg/L)	1.203	110	3.235	787	58	430
Nitrito (mg/L)	-	-	0,02	-	0,03	0,003
Nitrato (mg/L)	-	1,4	1,2	-	3,25	1,31
Amônia (mg/L)	141,95	64,51	3.180	134,16	825,49	164,65
Nitrogênio Total (mg/L)	141,95	65,91	3.281	134,16	828,77	166,01

Fonte: Adaptado de Rocha e Sant'Anna (2005)

Verifica-se a grande heterogeneidade da composição do lodo, pois esta depende de alguns fatores como frequência de limpeza, misturas nos caminhões de coleta e padrões e costumes da população.

Diante do atual quadro do saneamento básico de alguns municípios, pode-se prever que soluções individuais ou de pequenas coletividades para o tratamento de esgoto sanitário ainda serão amplamente adotadas. Cabe lembrar que as soluções adotadas para o tratamento do esgoto sanitário devem estar enquadradas dentro de um modelo que seja sustentável.

As unidades de tanque séptico se caracterizam pelo tratamento primário do esgoto sanitário, o que é insuficiente para, isoladamente, assegurar a melhores condições de lançamento de efluente sanitário nos corpos hídricos, no âmbito da legislação ambiental brasileira de acordo com a CONAMA 430/2011 Assim torna-se necessária a realização de um pós-tratamento do efluente do tanque séptico (BARBOSA; NOLASCO, 2006).

Barbosa e Nolasco (2006) relatam que têm ocorrido avanços relevantes em soluções que possam promover o tratamento de esgoto sanitário de localidades afastadas dos grandes centros urbanos de forma sustentável, com baixos custos de implantação e operação.

Heistad *et al.* (2006) realizou na Noruega o estudo de um sistema compacto de esgotamento sanitário de uma residência com as unidades tanque séptico, biofiltro aerado submerso e um filtro ascendente. Esse sistema apresentou uma eficiência de remoção de 97% de DBO, 30% de nitrogênio, 99,4% de fósforo e 70,8% de SS, sendo uma opção interessante para as condições locais.

Ratis (2009) analisando os resíduos gerados em fossas e tanques sépticos na cidade de Natal e verificou que o tipo de sistema mais adotado na cidade de Natal são as fossas e comprovou a diferença dos resíduos esgotados de regiões que apresentam características sócio-econômicas diferentes. Relatou também que os resíduos de fossa são bem mais concentrados que os esgotos domésticos e com relação ao parâmetro amônia o resultado foi superior ao nitrogênio orgânico, valores de amônia = 86,3mgN/L, e NTK = 139,4mgN/L. Na relação de sólidos a porcentagem de sólidos totais voláteis (70,2 %) foi superior a de sólidos totais fixos (29,8%) e sólidos suspensos voláteis (77,5%) também foi superior aos sólidos suspensos fixos (22,5%).

Belli Filho *et al.* (2004) observou após um estudo realizado em Florianópolis/SC em diferentes amostras de lodos provenientes dos descartes de diferentes tanques sépticos, uma significativa heterogeneidade para as diversas variáveis analisadas, com média de DQO=10.383mg/L; DBO=2.808mg/L; ST=9.550mg/L e SV=6.172mg/L.

Borges (2009) estudou a caracterização do lodo produzido em fossas sépticas, a concepção, o desenvolvimento e a avaliação de uma unidade piloto para pré-tratamento de lodo de fossas e tanques sépticos. Essa unidade, constituída por grade, desarenador e flotador, foi instalada no Campus da Universidade de São Paulo, junto da Estação de Tratamento de Esgoto do Campus e visam à remoção de sólidos grosseiros, areia e materiais flutuantes, antes de seu lançamento na Estação de Tratamento.

Depois de feita a caracterização do lodo de tanques sépticos constatou a grande heterogeneidade da composição do lodo e a elevada carga orgânica, que devem ser ponderados com relação a impactos no meio ambiente e em Estações de Tratamento de Esgoto (BORGES, 2009).

3.6 Ecotoxicologia

A necessidade de estudos ambientais com ênfase nas respostas dos organismos em conjunto com as análises químicas, levou ao desenvolvimento de uma ciência denominada Ecotoxicologia. Segundo Newman e Unger (2002), a Ecotoxicologia é uma ciência que estuda os contaminantes e seus efeitos nos constituintes da biosfera, avaliando a capacidade de substâncias químicas (isoladas ou em combinação) e amostras ambientais de causar efeitos deletérios aos organismos expostos (PEREIRA *et al.*, 2004).

A Ecotoxicologia é uma ciência relativamente nova quando comparada a outras ciências, e foi reconhecida mundialmente a partir dos anos 60. O Dr. Rene Truhaut, membro da Academia de Ciências da França foi o criador do termo “Ecotoxicologia” em 1969 para definir “o estudo dos efeitos adversos de substâncias químicas com o objetivo de proteger espécies naturais e populações” (RUBINGER, 2009).

É uma ciência multidisciplinar que engloba várias áreas de estudo, tais como biologia, química (orgânica, analítica e bioquímica), anatomia, genética, fisiologia, microbiologia, ecologia, ciências dos solos, das águas e atmosféricas, epidemiologia, estatística e direito (RUBINGER, 2009).

3.6.1 Ensaios Ecotoxicológicos

Os ensaios de toxicidade são testes laboratoriais realizados sob condições experimentais específicas e controlados, que estimam a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais podendo ser tanto em águas ou em sedimentos (COSTA *et al.*, 2008). Baseiam-se em avaliações das concentrações de um agente químico, e na duração de exposição requerida para a produção de um determinado efeito, com objetivo de detectar e avaliar o potencial de efeito de agentes químicos para organismos aquáticos (PAIVA, 2004).

Os ensaios ecotoxicológicos utilizam organismos representativos de ambientes de água doce, estuarina ou marinha. O conhecimento da toxicidade desses agentes a diferentes organismos aquáticos possibilita avaliar o impacto instantâneo que esses poluentes causam a determinadas substâncias. Geralmente nesses estudos são utilizados testes simples, como por exemplo, testes de curto prazo para avaliação dos efeitos agudos. Conforme a necessidades do trabalho podem ser também realizados testes mais complexos e sofisticados, como por

exemplo, testes de longo prazo para avaliação dos efeitos crônicos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Nos estudos ecotoxicológicos o principal instrumento é o teste de toxicidade que pode fornecer uma medida de todo o impacto tóxico de uma substância, composto ou efluente. Neste último caso o efeito adverso é devido a uma mistura complexa de substâncias químicas que integra diferentes fatores, tais como pH, solubilidade, antagonismo ou sinergismo, biodisponibilidade, etc. (COSTA *et al.*, 2008).

Em um estudo de toxicidade realizado por Costa *et al.* (2008) definiu que os testes de toxicidade são ferramentas aptas para avaliar a qualidade das águas e a carga poluidora de efluentes, uma vez que as análises físico-químicas tradicionalmente realizadas, de caráter orgânico ou inorgânico, cujos limites encontram-se estabelecidos nas legislações ambientais, não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes.

Apesar disso, os testes de toxicidade não substituem as análises químicas tradicionais, pois as análises químicas identificam e quantificam as concentrações das substâncias tóxicas, e os testes de toxicidade avaliam o efeito dessas substâncias sobre sistemas biológicos, fazendo com que as análises químicas e os testes de toxicidade se complementem.

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 13373/2005, os testes podem ser divididos de acordo com seus efeitos de toxicidade em teste agudo e crônico. O teste agudo consiste na exposição de organismo-teste em um curto período de exposição (48h) a várias diluições da amostra ou concentrações de um composto químico para conhecer a diluição ou concentração que causa efeito deletério na mobilidade de 50% dos organismos testes. O teste crônico consiste na exposição de organismos a concentrações subletais durante um período que compreende parte ou totalidade do ciclo de vida do organismo e fornece os efeitos deletérios causados pela amostra na sobrevivência e reprodução.

Nos ensaios de toxicidade aguda, observam-se critérios como mortalidade (principalmente para vertebrados) e de imobilidade (principalmente para invertebrados). Esses critérios são facilmente determinados, tendo amplo significado biológico e ecológico para o ambiente (VANLEEuwEN, 1988 *apud* ZAGATTO; BERTOLETTI 2008).

Ensaio de toxicidade crônica permitem avaliar os efeitos adversos mais sutis aos organismos estudados. Nestes testes, os indivíduos são expostos a níveis subletais do agente

químico que pode não provocar a morte, mas causar distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais em longo prazo (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Já os ensaios de toxicidade aguda podem ser definidos como aquele que avalia os efeitos severos e rápidos, sofridos pelos organismos expostos ao agente químico, em um curto período de tempo, geralmente de um a quatro dias. Devido à facilidade de execução, curta duração e baixo custo, esses ensaios foram os primeiros a serem desenvolvidos, constituindo-se a base dos dados ecotoxicológicos (BIRGE *et al.*, 1985).

Segundo Zagatto e Bertoletti (2008) os ensaios de toxicidade podem ser utilizados para diversos fins, como por exemplo, para:

- a) Determinar a toxicidade de agentes químicos, efluentes líquido, lixiviados de resíduos sólidos, dentre outros;
- b) Estabelecer critérios e padrões de qualidade das águas;
- c) Estabelecer limites máximos de lançamentos de efluentes líquidos quanto às exigências de controle ambiental;
- d) Avaliar a qualidade das águas;
- e) Avaliar a toxicidade relativa de diferentes substâncias.

De acordo com a NBR 12713 / 2009, os resultados dos testes de toxicidade aguda para *Daphnia magna* e *D. similis* podem ser expressos de três formas:

- a) Determinação da CE50: é a concentração real da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos, calcula-se a porcentagem de imobilidade para cada concentração em relação ao número total de organismos utilizados. A CE50 deve ser determinada por método estatístico adequado (Ex: Interpolação gráfica, Probitas, Trimmed Spearman- Kaber) e o resultado expresso em porcentagem para efluentes líquidos e águas e em miligramas por litro para substâncias químicas;
- b) Determinação do fator de toxicidade (FT): equivale ao CE zero e deve ser determinado através da observação direta da mobilidade dos organismos, não sendo calculado estatisticamente. Representa o menor valor de diluição da amostra no qual não se observa imobilidade maior que 10% nos organismos expostos. O resultado deve ser expresso em número inteiro;

- c) Determinação qualitativa: utilizada em amostras sem diluição. O resultado é expresso como “tóxico” ou “não tóxico”, confirmado por análise estatística (Teste de hipóteses e prova exata de Fisher).

O Programa estatístico “Trimmed Spearman Karber”, com correção de Abbot é utilizado para calcular a concentração que foi capaz de causar imobilidade em 50% dos organismos (CE50) expostos durante 48h de ensaio (HAMILTON, 1977). Ainda segundo Zagatto e Bertolotti (2008) nos ensaios ecotoxicológicos, os organismo-testes (peixe, microcrustáceo, algas dentre outros) são expostos a várias concentrações da amostra a ser testada (substância química, efluente, extratos aquosos) em soluções contidas nos frascos teste (aquários, tubos de ensaios, béqueres, etc.) por determinado período de tempo. Em todos os ensaios são utilizados frascos controle nos quais se avalia a viabilidade dos lotes de organismos. Após o período de teste verifica-se o efeito das amostras sobre alguns parâmetros biológicos como mortalidade, crescimento, reprodução, comportamento dos organismos, etc. Os efeitos observados são analisados estatisticamente e os resultados são expressos em unidades numéricas, tais como concentração efetiva (CE50) e concentração letal (CL50).

Bulich (1982) foi um dos percussores que desenvolveu a técnica para tentar estabelecer as faixas de toxicidade a fim de classificar os lançamentos de efluentes por níveis de toxicidade. Depois a técnica foi modificada por Coleman e Quereshi (1985) *apud* Coelho (2006) que estabeleceram quatro classes que podem ser utilizadas. Na Tabela 3 são apresentadas as classes de toxicidade e suas respectivas faixas de toxicidade de acordo com o valor da CE50. Desse modo é possível classificar o tipo de efluente variando entre muito tóxico até levemente tóxico.

Tabela 3 – Classificação da toxicidade aguda segundo BULICH

Valores de CE50	Classe das Amostras
< 25%	Muito Tóxica
25% - 50%	Tóxica
51% - 75	Moderadamente Toxica
>75%	Levemente Tóxica

Fonte: adaptado de Bulich (1982).

Os métodos estatísticos para determinação da CL50 e CE50 como Spearman-Karber e Trimmed Spearman-Karber, que são não paramétricos com boas propriedades

estatísticas, são fáceis de usar e recomendados para cálculos precisos com intervalo de confiança de 95%. Eles são válidos para curvas dose-resposta simétricas e assimétricas. A limitação desses métodos é que devem ser utilizados para os ensaios de toxicidade aguda (COSTA *et al.*, 2008).

3.6.2 Organismo-teste

De acordo com Zagatto e Bertolotti (2008) a seleção dos organismos a serem utilizados nos testes de toxicidade deve receber uma atenção especial a fim de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos como a comparação dos resultados entre diferentes grupos de organismos utilizados. Por isso, devem-se escolher espécies pertencentes a certos grupos representativos do ecossistema, como os produtores, consumidores e decompositores.

Ao buscar uma espécie para utilização em testes de toxicidade, observam-se alguns princípios como (ZAGATTO e BERTOLETTI, 2008):

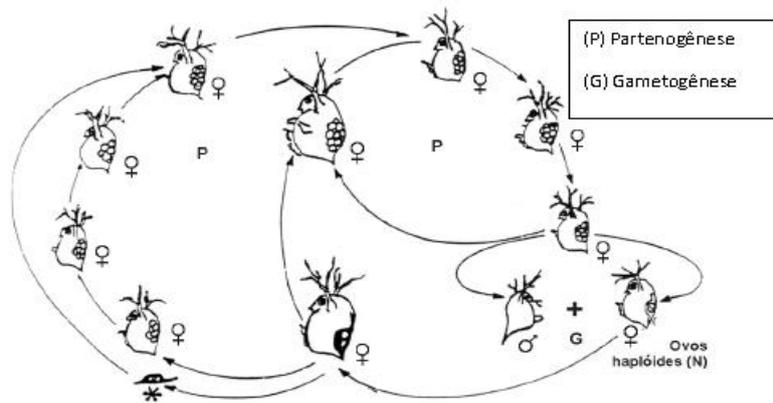
- a) A sensibilidade é importante, pois o organismo tem que ser sensível a uma diversidade de agentes químicos como, por exemplo, o dicromato de potássio;
- b) Que o organismo possua disponibilidade para que possibilitem o cultivo contínuo em laboratório, que tenha importância comercial e que sejam representativas do ecossistema em estudo;
- c) Ampla distribuição geográfica;
- d) Estabilidade genética para obtenção de lotes uniformes de organismos.

3.6.3 *Daphnia similis*

Os dafnídeos, espécies do gênero *Daphnia*, são uma importante fonte de organismos para testes de toxicidade aguda, por serem bastante sensíveis a poluentes, facilmente cultiváveis em laboratório e por apresentarem estabilidade genética (são partenogênicos), o que proporciona a obtenção de lotes bem uniformes de organismos (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

As *Daphnias Similis* são organismos planctônicos de água doce, filtradores de material orgânico particulado, pequenos (medem de 2,0 a 3,0 mm de comprimento de forma geral) que atuam na cadeia alimentar como consumidor primário entre os metazoários. Em condições ambientais favoráveis reproduz-se por partenogêneses, originando apenas fêmeas (Figura 4) (CETESB, 1992).

Figura 4 - Ciclo de reprodução da *Daphnia similis*



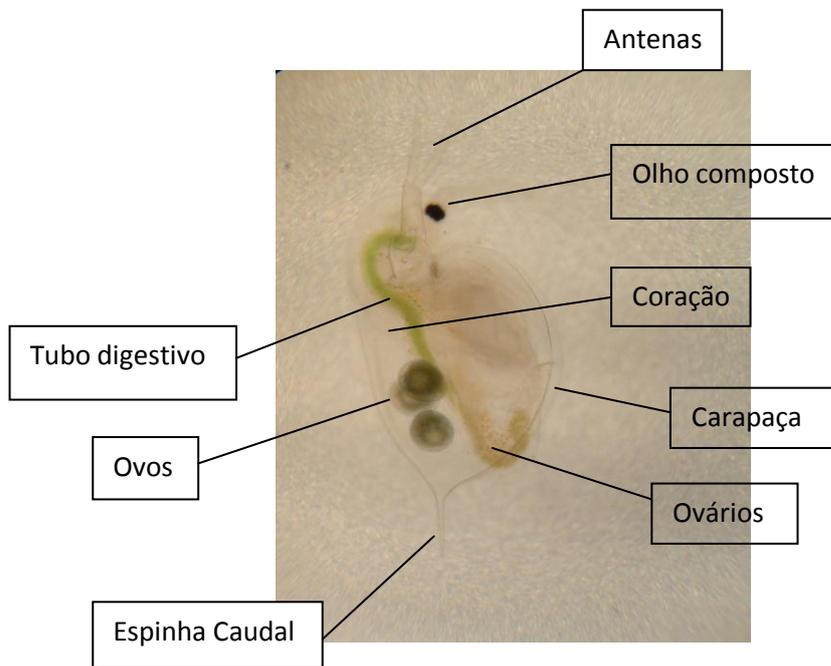
Fonte: CETESB, 1992.

Segundo Monteiro (2009) os organismo do gênero *Daphnia* são bastante utilizados em testes de toxicidade, devido alguns fatores dentre eles, sua ampla distribuição geográfica, a reprodução partenogenética (assegurando uma uniformidade de resposta dos testes), curto ciclo de vida e alta produção de neonatos, ideais para avaliação da toxicidade em nível mundial. O padrão reprodutivo das *Daphnias* é cíclico e depende de fatores abióticos. A partenogênese é comum à classe, sendo os machos desconhecidos em algumas espécies (BRENTANO, 2006).

De acordo com Heters e Bernadi (1987) *apud* Coelho (2006) os cladóceros morfológicamente, são compostos por cabeça e troncos bem definidos os quais se subdividem em tórax, abdômen e pós-abdômen. Possuem também dois pares de antena, sendo o primeiro par chamado de antênulas com a função de orientação através das cerdas sensitivas, já o segundo par apresenta uma bifurcação e cerdas rígidas, é utilizado para a locomoção (Figura

5). Para se movimentarem as *Daphnias* utiliza-se de pequenos saltos, e por este fato, são conhecidas como pulgas d'água. Na cabeça, encontram-se também, órgãos sensoriais responsáveis pela orientação na natação do animal, o olho composto, além do cérebro, nervos ópticos, músculos antenais e o início do aparelho digestório (HETERS; BERNADI, 1987 *apud* COELHO, 2006). O corpo dos cladóceros é coberto por uma carapaça quitinosa aberta na região ventral e na região anterior a carapaça encontra-se o coração oval ou alongado.

Figura 5 – Morfologia da *Daphnia similis* cultivada no Labosan, UFC.



Fonte: a autora, 2011.

Silva (2002) analisou a sensibilidade do microcrustáceo *Daphnia similis* a partir de ensaios crônicos e agudos, quando exposto ao lixiviado bruto do Aterro Metropolitano de Gramacho (RJ). O autor observou que a concentração de 1% não causou efeito crônico ao organismo-teste, já a o ensaio de toxicidade aguda mostrou que a concentração de 2,05% provocava imobilidade de 50% dos organismos-teste. Assim os ensaios com o organismo-teste estudado apontaram que o lixiviado bruto era muito tóxico, demonstrando ser potencialmente perigoso para o corpo receptor.

Sotero – Santos *et al.* (2005) avaliou a toxicidade aguda e crônica para *Daphnia Similis* em lodos de estação de tratamento de água contendo cloreto de alumínio e férrico. Os experimentos foram realizados tanto na época chuvosa quanto na seca e não causou

toxicidade aguda sobre *D. similis*, mas em longo prazo a exposição ao lodo contendo cloreto férrico causou algumas mortalidades e diminuição da reprodução das *Daphnias*, mostrando a necessidade de um tratamento antes da descarga em água receptora.

Ramirez (2009) monitorou o pós-tratamento do efluente de uma lagoa anaeróbia no solo ao fornecimento de água e nutrientes a uma cultura de eucalipto, com uso de análises ecotoxicológicas e verificou focos de toxicidade aguda ao menos uma vez seja nos ensaio em *Daphnia similis* ou *Vibrio fischeri* devido à presença de nitrato, zinco e chumbo em excesso.

Jonsson e Maia (2007) avaliaram a toxicidade do lodo de esgoto de duas estações de tratamento (Franca e Barueri) para *Daphnia similis* que mostrou maior toxicidade para o material de Barueri, cujo efeito se manifestou em menor tempo de exposição. Valores de mais de 90,0% de imobilidade dos organismos foram registrados durante os 14 dias de exposição, enquanto que no controle a imobilidade variou entre 3,1 e 21,8%.

3.6.4 *Daphnia magna*

A *Daphnia magna* é um microcrustáceo planctônico, de 5 a 6 mm de comprimento, que atua na cadeia alimentar aquática, utilizando a filtração para alimentar-se de material orgânico particulado em suspensão, principalmente algas unicelulares (Figura 6). São conhecidas como pulga d' água, e fazem a ligação entre níveis inferiores e superiores da cadeia alimentar (KNIE; LOPES, 2004).

Figura 6 - Microcrustáceo *Daphnia magna* cultivado no Labosan - UFC



Fonte: a autora, 2011.

No Brasil é relatada a presença natural das espécies *Daphnia gessnerii*, *D. ambigua* e *D. levis*, sendo que para o cultivo e os testes de toxicidade em laboratório são bastantes utilizadas as espécies *Daphnia magna* e *D. similis* as quais não ocorrem naturalmente no Brasil (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Para Knie e Lopes (2004) a escolha da *Daphnia magna* como organismo teste fundamenta-se principalmente nos seguintes critérios:

- a) Os descendentes são geneticamente idênticos, o que assegura certa uniformidade de respostas nos ensaios;
- b) A cultura em laboratório sob condições controladas é fácil e sem grandes dispêndios;
- c) O manuseio é simples, por causa do tamanho relativamente grande da espécie, em comparação com outros microcrustáceo;
- d) A *Daphnia magna* é internacionalmente reconhecida como organismo-teste e vem sendo utilizadas há décadas em laboratório ecotoxicológicos.

Em condições favoráveis, os dafinídeos produzem entre 4 a 65 jovens antes de cada muda, sendo a reprodução partenogenética, ou seja, a população é constituída inteiramente por fêmeas, que dão origem a neonatos idênticos a elas. Em caso de estresse ambiental (superpopulação, falta de alimento ou mudança de temperatura) podem aparecer machos na população que fecundam as fêmeas, dando origem a ovos efípios, que são altamente resistentes a condições desfavoráveis. Quando tal fato ocorre, o lote inteiro deve ser descartado (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

O microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* tem sido bastante utilizado como indicador biológico em estudos no controle da qualidade da água e em testes de toxicidade na avaliação de efluentes (NIETO, 2000). Laitano e Matias (2006) observaram após um estudo de remoção de toxicidade em reatores UASB que os testes de toxicidade são uma ferramenta prática e vantajosa na avaliação da toxicidade de efluentes, e também apresentam respostas rápidas e seguras para o controle e monitoramento da qualidade ambiental.

Alguns contaminantes orgânicos quando não removidos nas estações de tratamento do esgoto, podem modificar a manutenção da vida aquática, reduzindo o teor de oxigênio dissolvido, e determinou através de ensaios ecotoxicológicos através de microorganismos aquáticos de diferentes níveis tróficos, a carga tóxica que chega à estação de tratamento (HAMADA, 2008).

Os ensaios de toxicidade crônicos mais difundidos mundialmente são os testes com *Daphnia magna* com duração de 21 dias e com *Ceriodaphnia*, de 07 dias que são usados avaliação de toxicidade crônica de amostras ambientais e toxicidade de novas formulações químicas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Os testes de toxicidade mostraram-se ser uma ferramenta imprescindível na avaliação de subprodutos gerados em condições anaeróbias e aeróbias de esgotos têxteis, melhorando o entendimento dos processos de tratamento (MONTEIRO, 2009).

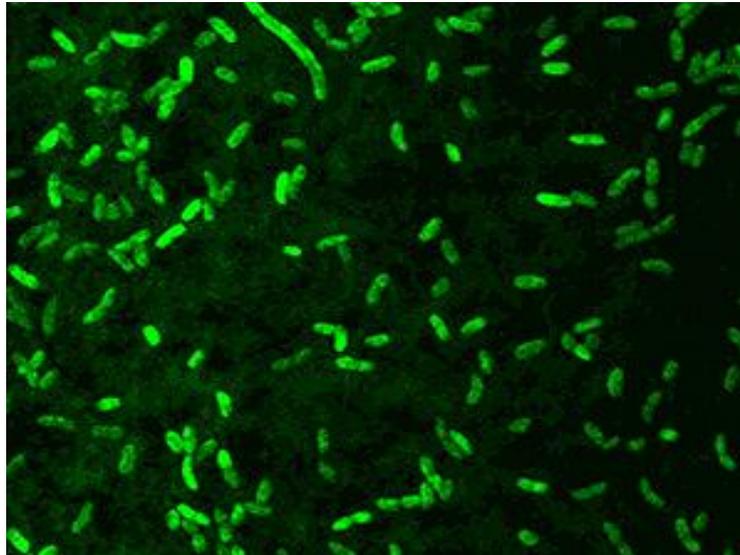
Segundo Costa *et al.* (2008) basicamente a *Daphnia magna* e *Daphnia similis* são diferenciadas pelo tamanho e essa característica pode influenciar na toxicidade das substâncias, mas estudos realizados por Beatrici *et al.* (2006) comparando a sensibilidade e dietas destas espécies mostram que ambas apresentam sensibilidade semelhante, sendo a *D. similis* mais sensível para algumas substâncias como o dicromato de potássio e efluentes.

3.6.5 Bactéria marinha *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri é uma bactéria marinha luminescente, gram-negativa, anaeróbia facultativa, que pode ser encontrada em oceanos ou associadas no intestino e em órgãos luminosos de lulas (*Euprymna scolopes*), peixes e outros animais marinhos, onde estabelecem uma relação de simbiose muito importante para ambas as espécies (CAETANO; ANTUNES, 2003). Quando em pequenas quantidades de células, *Vibrio fischeri* não emite luz, mas em altas densidades emitem uma luz azul-esverdeada. Essa luz é emitida através de um processo que depende da densidade celular e é ativado por auto-indução genética. Nos oceanos, a densidade deste organismo é cerca de 10² células por mL, sendo pouca concentração celular, não ativando os genes luminescentes. Porém quando estes organismos encontram-se inseridos dentro de órgãos luminosos (Figura 7) a concentração celular é cerca de 10¹⁰ células por mL, causando a emissão de luz pelas bactérias (STEVENS *et al.*, 1997; SCHAEFER *et al.*, 1996 *apud* PAIVA, 2004).

A intensidade da luz destas bactérias expostas a uma amostra é comparada a de um controle onde, na presença de substâncias tóxicas, a bioluminescência diminui proporcionalmente à toxicidade da amostra (KNIE; LOPES, 2004).

Figura 7 – Colônias de fotobactérias *Vibrio fischeri*



Fonte: microbewiki.kenyon.edu/index.php/Vibrio_fischeri, 2011.

A bioluminescência produzida pela bactéria marinha *Vibrio fischeri* é a base para vários bioensaios de toxicidade, onde é utilizada para avaliar desde a toxicidade de água contaminada, sedimentos de solo, água pluvial, entre outros. Em todos esses sistemas a toxicidade é avaliada medindo até que ponto a substância causa inibição sobre a emissão de luz pelas bactérias (JENNINGS, 2001 *apud* SANTOS, 2011). O emprego da bactéria para testes de toxicidade aguda é muito vantajoso pelo fato da simplicidade e da rapidez de resposta dos resultados.

Entre bactérias utilizadas em bioensaios, os testes de inibição do *Vibrio fischeri* é o mais comuns. Com base na literatura o teste de inibição da bactéria é o teste mais sensível, econômico e fácil de operar e requer apenas 5, 15 e 30 minutos para previsão de toxicidade (PARVEZ, 2005). É padronizada para ensaio ecotoxicológico agudo e não requer manutenção para cultivo laboratorial quando são obtidas liofilizadas (SANTOS 2011).

A bactéria luminescente *Vibrio fischeri* e o microcrustáceo *Daphnia magna* são amplamente utilizados em ensaios de biotoxicidade aguda em todo mundo, sendo seu método padronizado e em alguns países o ensaio exigido por lei.

Estudos como o realizado por Quereshi *apud* Peret (2009), mostraram que a grande massa de matéria orgânica em decomposição nos pontos de coleta levaram a uma concentração de amônia na água intersticial que superou a sensibilidade da bactéria *Vibrio*

fischeri ao composto, que é de, aproximadamente, 3,5 mg/L, apontando indícios de toxicidade nos pontos de maior concentração do composto.

O fator toxicidade é muito importante para o estudo de efluentes, em que muitos compostos diferentes juntos podem expressar suas toxicidades. As misturas de compostos tóxicos podem exprimir uma toxicidade diferente do que simplesmente a soma das toxicidades individuais por causa das interações sinérgicas ou antagônicas entre os compostos presentes (SAYLOR, G.L; CHEN, L; KUPFERLE, J.,2011).

A aceitação de teste de toxicidade que têm o meio por instrumento analítico requer garantias de padronização e de validação. Apesar do ensaio da bactéria *Vibrio fischeri* ser considerado como um dos testes de toxicidade mais amplamente aplicado em vários países existe fatores ligados ao procedimento experimental (preparação da amostra, composição de amostra) ou bactérias (conservação, reconstituição, tempo de equilíbrio à temperatura de ensaio) que podem ser causas potenciais de variabilidade para resultados de toxicidade. Neste sentido, a padronização e a validação do ensaio com a *V. fischeri* serve para avaliar os efeitos tóxicos das substâncias químicas na consistência dos resultados (HERNANDO *et al.*, 2006)

Vasseur *et al.* (1998) comparou a toxicidade de efluentes industriais com o bioensaio da bactéria *Vibrio fischeri* e a *Daphnia magna*. O critério utilizado foi à determinação efetiva da concentração do efluente que reduz 50% da bioluminescência (CE50). Os resultados dos testes foram concordantes em 86% dos resultados de toxicidade de efluentes industriais e a sensibilidade dos organismos está relacionada ao tipo de efluente.

3.6.6 Sistema Microtox®

O sistema analisador de toxicidade Microtox® é um equipamento que utiliza as bactérias de origem marinha *Vibrio fischeri*. Ele possui um espectrômetro modificado baseado na quantificação das variações na emissão de luz. A taxa de inibição de luz no teste com *V. fischeri* pode variar de acordo com a natureza dos compostos tóxicos, como demonstrado em modelos para compostos orgânicos e metais pesados. Enquanto compostos de natureza orgânica desencadeiam uma resposta rápida e constante ao longo do tempo, metais pesados inibem mais lentamente, dependendo da concentração aplicada (BETTINARDI, *apud* SANTOS, 2011).

A resposta do teste é normalmente expressa pela CE50 ou CE20 que é calculada a partir da redução na quantidade de luz emitida pelo microrganismo teste após sua exposição

ao agente tóxico por um período de 15 minutos em condições padronizadas. A CE50 pode ser transformada em unidade tóxica (U.T), ou ainda pode ser expressa pelo valor do efeito gama. Esse valor é obtido pela razão entre o decréscimo na quantidade de luz emitida pelo organismo teste e a quantidade de luz remanescente durante a exposição. A CE50 é a concentração da amostra que corresponde ao valor de gama igual um (BORRELY, 2001).

Schepper *et al.* (2010), avaliou a toxicidade de caminhões tanque com efluentes de águas residuais de limpeza. Usando EDTA e adição de carvão ativado, revelou compostos orgânicos como fonte principal de toxicidade. Características tóxicas poderiam ser derivadas de simulação de uma estação de tratamento águas residuais hidráulica sendo elevada frequência de ingestão, baixa biodegradabilidade e proporção elevada de toxicidade aguda entre *Pseudokirchneriella subcapitata* e *Daphnia magna*.

Martins (2009) ao observar os resultados obtidos com os ensaios ecotoxicológicos para *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* em água de chuva em São Paulo, percebeu que os organismos utilizados demonstraram sensibilidade às amostras testadas demonstrando o efeito tóxico. Houve também correlação entre os resultados obtidos para *D. similis* e *V. fischeri*, indicando que a causa do efeito observado nos dois ensaios possivelmente seja a questão dos gases na deposição atmosférica.

Abbondanzi (2003) observou que o bioensaio realizado com a bactéria *Vibrio Fischeri* em alguns íons metálicos apresentaram sensibilidade ao sistema Microtox®, no entanto, têm que estar dentro de alguns padrões como um ideal de salinidade (20g – 40g de NaCl) e pH pois esses itens podem alterar suas propriedade tóxicas.

3.6.7 Teste de sensibilidade – Carta Controle

O controle de sensibilidade dos organismos, através da realização periódica de ensaios com determinada substância de referência, é um procedimento que permite maior precisão e confiabilidade nos resultados obtidos ao longo do tempo (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Substâncias de referência são utilizadas para avaliar as condições de “saúde” dos organismos-teste, sejam eles oriundo do campo ou cultivados em laboratório. Alguns produtos mais utilizados como substância de referência são: o cloreto de sódio, dicromato de potássio, fenol, nitrato de prata, sulfato de zinco, sulfato de cobre dentre outras (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Werner e Buratini (2002) utilizando teste de toxicidade aguda com *Daphnia similis* testaram a sensibilidade deste microcrustáceo ao dicromato de potássio, em três condições de cultivo, águas de diluição e dietas diferentes e observaram que independentemente das condições de cultivo os organismo apresentaram sensibilidade semelhante quando se utilizou o mesmo tipo de água de diluição.

3.6.8 Legislação aplicada a ecotoxicologia

No Brasil, a primeira instituição ambiental a adotar os testes toxicológicos como parâmetro de avaliação de águas efluentes foi a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB), em São Paulo, utilizando praticamente na maioria de seus bioensaios a metodologias da Environmental Protection Agency (EPA), órgão de proteção ambiental dos Estados Unidos (KNIE; LOPES, 2004). A padronização e validação dos ensaios de toxicidade são feitos através de associações ou organizações como USEPA e as normas brasileiras NBR 12713 (ABNT, 2009), DIN 38412 (DIN, 1989), ISO 6341(ISO, 1996) e OECD 202 (OECD, 2000). Muitos são os laboratórios que realizam testes de toxicidade, pois cada vez mais essa ferramenta tem sido reconhecida como um forte instrumento de avaliação de impacto ambiental. A Tabela 4 mostra algumas normas da ABNT e CETESB que padronizam os testes de toxicidade aguda e crônica.

Tabela 4 – Teste de toxicidade padronizado pela ABNT e CETESB

	Normas	Identificação
Normas da CETESB	L5.018	Teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia similis</i> Claus, 1879 (Cladocera, Crustacea).
	L5.019	Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte I - Sistema Estático. Parte II - Sistema Semi-Estático. Parte III - Sistema de Fluxo Contínuo.
	L5.020	Teste de toxicidade com <i>Chlorella vulgaris</i> (Chlorophyceae).
	L5.022	Avaliação de toxicidade crônica, utilizando <i>Ceriodaphnia dubia</i> Richard, 1894 (Cladocera, Crustacea).
	L5.227	Bioensaio de toxicidade aguda com <i>Photobacterium phosphoreum</i> (Sistema Microtox).
	L5.228	Teste de toxicidade aguda utilizando <i>Spirillum volutans</i> .
	L5.250	Água do Mar - Teste de Toxicidade Crônica de Curta Duração com <i>Lytechinus ariegatus</i> Lamarck, 1816 (Echinodermata, Echinoidea).
	L5.251	Água do Mar - Teste de Toxicidade Aguda com <i>Mysidopsis juniae</i> Silva, 1979 (Mysidacea, Crustacea).
Normas da ABNT	NBR 12713	Água - Ensaio de Toxicidade Aguda com <i>Daphnia similis</i> Claus, 1876 (Cladocera , Crustacea).
	NBR 12714	Água - Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte I - Sistema estático.
	NBR 12715	Água - Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte II - Sistema semi-estático
	NBR 12716	Água - Ensaio de toxicidade aguda com peixes - Parte III - Sistema de fluxo contínuo.
	NBR 12648	Ensaio de toxicidade com <i>Chlorella vulgaris</i> (Chlorophyceae).

Fonte: Magalhães e Ferrão filho, 2008.

O emprego da normalização e da padronização internacionalmente de bioensaios com microrganismos possibilita a aplicação uniforme dos métodos assegurando resultados comparáveis dentre os diversos laboratórios existentes.

Existem no Brasil alguns órgãos ambientais que fazem o controle de efluentes líquidos, dentre estas estão a Fundação de Amparo a Tecnologia e Meio Ambiente (FATMA) em Santa Catarina, na qual segue a Portaria nº 017/02 – FATMA que dispõe sobre a toxicidade como parâmetro de caracterização dos efluentes de diferentes origens impondo limites de lançamento para o estado de Santa Catarina, conforme a Tabela 5. O Art. 5º, também desta Portaria, estabelece os limites máximos de toxicidade para efluentes, utilizando *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri* como organismos bioindicadores de toxicidade.

Tabela 5 – Limite máximo de toxicidade aguda para *Daphnia magna* e *Vibrio fischeri* em efluentes de diferentes categorias no Estado de Santa Catarina.

CATEGORIA DO EFLUENTE	SUBCATEGORIA	LIMITE DE TOXICIDADE AGUDA PARA <i>Daphnia magna</i>		LIMITE DE TOXICIDADE AGUDA PARA <i>Vibrio fischeri</i>	
		FDd	FDd (%)	FDbl	FDbl (%)
Metal mecânica	Siderurgia	4	25	6	16,66
	Metalurgia	4	25	6	16,66
	Galvanoplastia	16	6,25	8	12,5
Alimentícia	Frigoríficos, Abatedouros, Laticínios, Cerealistas, Bebidas, Fecularias, Alimentos	2	50	4	25
Esgotos Domésticos e/ou Hospitalares		1	100	4	25
Resíduos Urbanos	Efluentes de Aterros Sanitários	8	12,5	16	6,25
Papel e Celulose		2	50	4	25
Couros, Peles e Produtos Similares		4	25	6	16,66
Têxtil	Beneficiamento de Fibras Naturais e Sintéticas, Confeção e Tinturaria	2	50	2	50
Química	Agroquímica, Petroquímica, Produtos Químicos não Especificados ou não Classificados	2	50	4	25
Farmacêutica		2	50	4	25

FONTE: PORTARIA 017/02 DA FATMA

NOTA: FDd: fator de diluição para *Daphnia magna*

FDbl: fator de diluição para *Vibrio fischeri*

FDd (%) e FDbl (%): porcentagem de amostra na solução teste

No Brasil, a avaliação da qualidade de um efluente baseava-se apenas em suas características físico-químicas. No entanto, em 2005 foi publicada a Resolução CONAMA N° 357, que estabelece as condições e padrões para lançamento de efluentes industriais, inclusive quanto ao potencial para provocar efeitos tóxicos no corpo receptor.

A Resolução CONAMA N° 430/2011 que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementando e alterando a Resolução CONAMA N° 357/2005

em seu Capítulo I, destaca as definições referentes a indicadores e padrões ecotoxicológicos, tais como Concentração Efetiva Mediana (CE50), Fator de Toxicidade (FT), Concentração de Efeito Não Observado (CENO) e Concentração do efluente no Corpo Receptor (CECR). A Resolução Conama 357/2005 tratava de alguns pontos referentes à toxicidade dos efluentes, porém a nova resolução foi dada maior clareza em relação a esses pontos. O Art. 18º estabelece a exigência da realização dos testes de toxicidade para dois níveis tróficos de organismos aquáticos e estabeleceu diretrizes para avaliação do efeito tóxico do efluente no corpo receptor com base em parâmetros definidos (CERC, CENO e FT).

A Resolução da Secretaria do Meio Ambiente (SMA-3), publicada no Diário Oficial do Estado de São Paulo em 25/02/2000 estabelece as eventuais interações entre as substâncias no efluente, não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor. Para esta Resolução, as relações que determinam a toxicidade permissível são:

$$D.E.R \leq (CE50 \text{ ou } CL50)/100 \text{ ou}$$

$$D.E.R \leq CENO/10$$

onde:

D.E. R = diluição do efluente no corpo receptor, em %;

CE50 = concentração do efluente que causa efeito agudo (imobilidade) a 50% dos organismos aquáticos, em um determinado período de tempo, em %;

CL50 = concentração do efluente que causa efeito agudo (letalidade) a 50% dos organismos aquáticos, em um determinado período de tempo, em %;

CENO = concentração do efluente que não causa efeito crônico observável, em %.

Para atender a este quesito da legislação federal a CETESB utiliza a Resolução da SMA 03/2000, que estabelece os critérios para a realização do controle ecotoxicológicos de efluentes líquidos no Estado de São Paulo (CETESB).

O Conselho Estadual do Meio Ambiente - CEMA editou a Resolução 081/2010 que dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o controle de efluentes líquidos lançados nas águas superficiais no Estado do Paraná. A Resolução 081/2010 - CEMA fixa critérios e padrões de emissão relativos à ecotoxicidade de efluentes líquidos para as fontes geradoras que lancem seus efluentes em águas doces, salinas e salobras no Estado do Paraná, para fins de licenciamento e automonitoramento exigido pelo órgão ambiental competente e Instituto das Águas do Paraná na outorga e cobrança sobre o lançamento de efluentes.

No estado do Rio de Janeiro, a Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente (FEEMA-RJ) estabelece critérios e padrões para controle de toxicidade, em efluentes líquidos e industriais, utilizando testes de toxicidade com organismos aquáticos vivos.

No Paraná, o Instituto Ambiental do Paraná (IAP) regulamenta os limites de toxicidade para o lançamento de efluentes através da Portaria nº019 de 2006 em que promove ensaios ecotoxicológicos e realiza o monitoramento ambiental. Em suas considerações iniciais cita que “As substâncias presentes nos efluentes não poderão causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos, alterações no comportamento e fisiologia dos organismos aquáticos no corpo receptor, determinado em laboratório por testes ecotoxicológicos padronizados”.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local da coleta

A Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE) disponibiliza o serviço de recebimento de efluentes domésticos de locais em que não possuem rede de esgoto da Cagece e precisam fazer a retirada do lodo.

A CAGECE recolhe os resíduos despejados na rede coletora de esgoto das residências, nos comércios ou nas indústrias, onde são transportados através das estações elevatórias (EE), que fazem o bombeamento dos efluentes nos pontos baixos os conduzido às tubulações ou sendo levados diretamente à estação de tratamento de esgoto (ETE).

Por último, todos os resíduos são levados para a estação de tratamento de esgoto (ETE), que trata a água residuária antes de lançá-los no seu destino final, reduzindo assim a poluição dos recursos hídricos.

O local da coleta dos resíduos para o estudo ocorreu na ETE-São Cristóvão/ CAGECE localizada no bairro São Cristóvão, que foi inaugurado em 1993 e desde então têm recebido despejos de caminhões limpa-fossas. Estes despejos são destinados a um tratamento composto por dois leitos de secagem com o objetivo de minimizar o impacto dos resíduos nas lagoas, pois estão carregados de areia, dificultando a eficiência do tratamento preliminar e assoreando as lagoas.

Após isso os resíduos passam por um tratamento preliminar composto de um gradeamento e duas caixas de areia, e posterior para o processo de tratamento por lagoas de estabilização em série, sendo 1 anaeróbia, 1 facultativa e 2 de maturação com mostra a Figura 8. Após os resíduos passarem pela última lagoa, são lançado no rio Cocó onde são descartados.

Figura 8 – Vista panorâmica das lagoas de estabilização da ETE São Cristóvão/CAGECE, Fortaleza, CE.



Fonte: Google, 2011.

L1: Lagoa anaeróbia; L2: Lagoa facultativa; L3: Lagoa de maturação; L4: Lagoa de maturação.

4.2 Metodologia de coleta

Os resíduos foram coletados quinzenalmente na ETE São Cristóvão, no período de novembro de 2010 a janeiro de 2012, totalizando 20 amostragens. Como a estação recebe tanto esgoto doméstico, como esgoto de origem industrial, foi feita uma pré-seleção dos caminhões que só tivessem esgotados resíduos oriundos de fossas ou tanques sépticos.

As amostras foram coletadas na saída do cano de descarga dos caminhões limpa-fossa que está localizada na parte inferior, e como os materiais densos sedimentam com mais facilidade como areia, foi contabilizado o tempo total em que o caminhão levaria para

descarregar todo o resíduo e quando estivesse na metade do tempo foi realizada a coleta como mostra a Figura 9. A coleta das amostras foi realizada por meio de amostragem simples e foi armazenada em frascos de polietileno de 5 litros. As coletas foram realizadas pelo período da manhã.

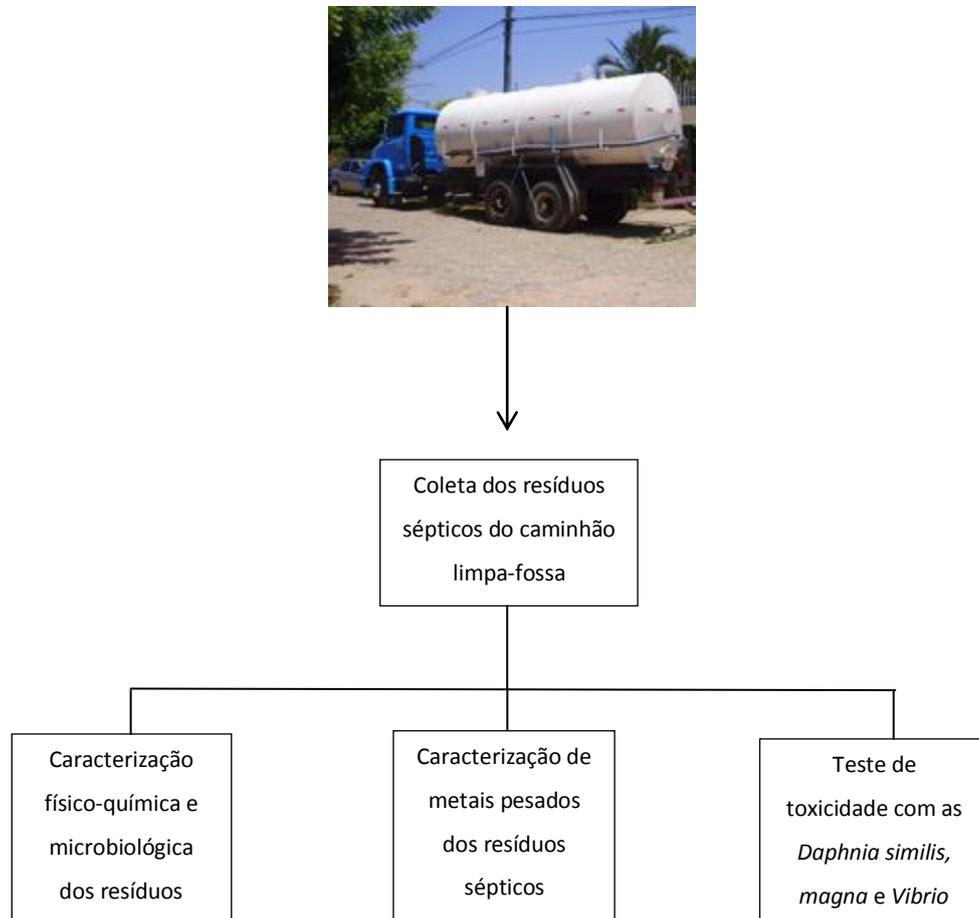
Figura 9 – Ilustração de um caminhão limpa fossa descarregando na estação e a realização da coleta.



Fonte: a autora, 2011.

Simultaneamente á coleta foram realizados questionários caracterizando os resíduos esgotados de caminhões limpa fossa como data e hora da coleta, responsável pela coleta, tipo de resíduo (doméstico ou industrial), local de onde foram coletados os resíduos, se choveu naquele período, como também foi feita uma previa caracterização dos resíduos em campo. A Figura 10 mostra o esquema demonstrativo das etapas da pesquisa.

Figura 10 – Esquema das etapas da pesquisa.



Fonte: a autora, 2012.

4.3 Caracterização dos resíduos sépticos dos caminhões limpa-fossa

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento (LABOSAN) da Universidade Federal do Ceará. A maioria das análises (Tabela 6) foi realizada de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater 21th (2005). A análise de metais pesados foi realizada no Laboratório de Química. A Tabela 6 mostra as análises realizadas com seu respectivo método.

Tabela 6 – Parâmetros realizados na caracterização de amostras de lodo

Variável	Método	Referência
pH	Potenciômetro	APHA, 2005
Condutividade Elétrica	Sonda Multiparâmetros	Modelo HI 9828/HANNA
Temperatura	Sonda Multiparâmetros	Modelo HI 9828/HANNA
Sólidos Totais (mg/L)	Gravimétrico - Secagem a 103 – 105°C	APHA, 2005
Sólidos Totais Voláteis (mg/L)	Gravimétrico - Secagem	APHA, 2005
Sólidos Suspensos Totais (mg/L)	Gravimétrico – Filtração a vácuo	APHA, 2005
Sólidos Suspensos Voláteis (mg/L)	Gravimétrico – Filtração a vácuo	APHA, 2005
Sólidos Sedimentáveis (mg/L)	Visualização em Cone de Imhoff	APHA, 2005
Alcalinidade total (mgCaCO ₃ /L)	Titulométrico	APHA, 2005
Oxigênio Dissolvido	Sonda Multiparâmetros	Modelo HI 9828/HANNA
DQO (mgO ₂ /L)	Método Colorimétrico por refluxo fechado	APHA, 2005
DBO (mgO ₂ /L)	Método de Frascos Padrões	APHA, 2005
Nitrato (mgN/L)	Espectrometria	APHA, 2005
Nitrito (mgN/L)	Espectrometria	APHA, 2005
Nitrogênio Kjeldahl Total (mgNorg/L)	Kjeldahl	APHA, 2005
Nitrogênio Amoniacal (mgNH ₃ /L)	Destilação Preliminar	APHA, 2005
Fósforo Total (mgP/L)	Digestão – ácido ascórbico	APHA, 2005
Metais	Espectrometria por absorção atômica	APHA, 2005
Dureza	Titulometria	APHA, 2005
Coliformes	Substrato Cromogênio	COLILERT

Fonte: a autora, 2012.

As análises de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade foram realizadas em campo. As demais análises foram realizadas no mesmo dia, ou no dia seguinte. Fez-se necessário uso de diluições devido a elevadas concentrações dos resíduos. Na análise de coliformes totais foram utilizadas vidrarias autoclavadas. O reagente (Colilert) foi adicionado ao frasco de 100 mL que foi agitado até completa diluição dos grânulos. A solução

foi colocada em uma cartela composta de cinquenta e umas cúpulas, que foi colocada em uma seladora e a solução distribuída igualmente.

Os resultados foram expressos de acordo com a tabela NMP (número mais provável em 100 ml) onde uma cúpula positiva equivale a uma bactéria em 100 ml de amostra.

4.4 Metodologia dos testes de ecotoxicidade.

Os testes de toxicidade foram realizados com três organismos diferentes: os microcrustáceos *Daphnia similis*, *Daphnia magna* e a bactéria *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox®) de acordo com a NBR 12713:2009 para as *Daphnias* e a NBR 15411-3:2006 para bactérias liofilizadas *Vibrio fischeri*. Foram feitos ensaios de toxicidade aguda, para cada espécie após as coletas dos resíduos dos caminhões limpa fossa.

Antes da realização dos testes de toxicidade foram analisados nas amostras os parâmetros de concentração de oxigênio dissolvido (OD), temperatura, pH e dureza. Este monitoramento teve como objetivo avaliar a interferência de alguma variável nos resultados de toxicidade obtidos já que, segundo Zagatto e Bertoletti (2008), estes são os principais fatores abióticos que podem interferir nestes resultados.

Devido à grande quantidade de sólidos existente na amostra, foi primeiramente centrifugado a uma rotação por minuto (RPM) de 3000 durante 10 minutos. Se mesmo após a centrifugação persistissem os sólidos, o material era filtrado á vácuo em membrana com poros de 0,45 µm. A Figura 11 mostra o resíduo antes e depois da amostra passar pelo processo de centrifugação.

Figura 11 - Amostra para teste de toxicidade. A: Amostra em estado bruto, B: Amostra após passar pelo processo de centrifugação.



Fonte: a autora, 2011.

4.4.1 Cultivo dos microcrustáceo *Daphnia similis* e *Daphnia magna*

Os microcrustáceos utilizados nos ensaios de toxicidade foram cultivados no Laboratório de Saneamento (LABOSAN) do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental (DEHA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), segundo metodologia descrita na NBR 12.713 (ABNT, 2009). O preparo do meio de cultivo de *Daphnia magna* (ANEXO A) e da *Daphnia similis* (ANEXO C) era realizado uma vez por semana, aerado por 24 horas para completa solubilização dos sais, saturação do oxigênio dissolvido que deve estar numa faixa entre 60 - 100% e estabilização do pH. Depois de feita a aeração era monitorado e anotado os parâmetros físico-químicos de pH, dureza, oxigênio dissolvido para garantia da sobrevivência e reprodução dos organismos (Tabela 7).

Tabela 7 – Requisitos para água de cultivo e diluição

Característica	<i>Daphnia magna</i>	<i>Daphnia similis</i>
Dureza total mg CaCO ₃ /L	175 a 225	40 a 48
pH	7,6 a 8,0	7,0 a 7,6

Fonte: ABNT NBR 12713, (2009).

Os organismos foram cultivados em forma de lote, sendo que cada lote comportava 25 organismos em 1L de meio de cultivo, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 16h de luz e 8h no escuro, temperatura de 18°C a 22°C, mantidos em câmara de germinação da marca Tecnal TE-401 com temperatura de $\pm 20^\circ\text{C}$, como mostra a Figura 12. Os lotes eram formados exclusivamente por fêmeas que se reproduzem por partenogênese. O meio de cultivo era mantido na câmara, antes da sua utilização, para evitar diferenças de temperaturas maiores que 2°C. Para diferenciar os lotes de *Daphnia magna* e *D. similis* foi utilizado uma fita colorida nos beckers e aquários para correlacionar as espécies e as vidrarias, como mostra a Figura 12.

Figura 12 – Lotes de *Daphnias* acondicionadas na câmara de germinação, Labosan – UFC.



Fonte: a autora, 2012.

A manutenção dos organismos era feita três dias da semana (segunda, quarta e sexta-feira), recolocando-os em um meio de cultivo novo, através de da utilização de pipetas *pasteur*. Diariamente eram removidos dos aquários, resíduos como carapaças, organismos mortos e depósitos de algas. Semanalmente, eram separados os organismos adultos dos jovens, onde estes eram utilizados para os testes de toxicidade. Os organismos não utilizados eram sacrificados ou descartados (servindo de alimento para peixes), ou serviam de matriz para compor um novo lote. Quando os organismos adultos atingiam a 6ª ninhada o lote era descartado devido à diminuição da reprodução. Quando constatado a presença de machos ou efípios (ovos resistentes resultantes de reprodução sexuada) o lote era descartado.

Neonatos de *D. similis* com idade entre 6 e 24 horas e *Daphnia magna* com idade entre 2 e 26h, foram expostos às diversas concentrações da substância de referência, bem como às amostras envolvidas no estudo. Os organismos jovens foram obtidos a partir de fêmea com idade entre 10 e 60 dias para *Daphnia magna* e para *Daphnia similis* com idade entre 7 e 28 dias. A imobilidade ou morte são resultados da exposição dos organismos à amostra sendo que cada réplica foi composta por cinco organismos, totalizando 20 organismos por concentração.

4.4.2 Alimentação das Daphnias

As *Daphnias* foram alimentadas com suspensão da alga *Pseudokirchneriella subcaptada* na concentração diária de $4,5 \times 10^6$ células por mililitro de organismo adulto, onde o alimento foi fornecido diariamente, ou intervalo máximo de dois dias. As algas foram cultivadas no LABOSAN, e a metodologia para o cultivo da alga *P. subcaptada* e preparação do meio de cultivo LC oligo (ANEXO B) está descrito conforme a NBR 12648/2005.

Inicialmente as algas foram estocadas em tubos de ensaios com meio de cultivo sólido com temperatura variando entre 4°C a 10°C, por um período de 6 meses. Foi utilizado 30g de ágar-ágar por litro de meio de cultivo LC oligo na preparação do meio de cultivo da cultura estoque. A partir disso, as algas foram repicadas periodicamente para o meio LC oligo líquido e mantidas em erlenmeyer.

As culturas mantidas em erlenmeyer eram repicadas através da chama do bico de gás, para um meio LC oligo limpo, onde era feita uma proporção de 2mL de suspensão algácea para 100mL de meio de cultivo, garantindo a qualidade das culturas de alga. Após a inoculação as culturas permaneceram a 20°C a 30°C sob iluminação constante, onde era feita agitação manual duas vezes ao dia para homogeneização da suspensão algácea como mostra a Figura 13. Para uma cultura ser bem sucedida, não depende apenas da qualidade da água e alimentação, mas principalmente da manipulação correta dos organismos, obtendo um padrão a ser seguido de manuseio dos organismos.

Figura 13 – Cultivo da alga *Pseudokirchneriella subcapitata* no Labosan – UFC.



Fonte: a autora, 2011.

A suspensão algácea foi centrifugada em rotação de 2000 RPM durante 12 minutos, na qual o líquido sobrenadante era descartado e o precipitado (biomassa) restante foi diluído em meio de cultivo *Daphnia similis* evitando assim possível interferência de nutrientes e compostos existentes no meio cultivo das algas. Após preparado o alimento, foi feita a leitura no espectrofotômetro para a determinação da quantidade de células de algas por unidade de volume.

4.4.3 Testes de sensibilidade – Carta Controle

O principal objetivo dos testes de sensibilidade é avaliar as condições em que os organismos se encontram no momento do teste. A norma ISO 6341 recomenda como substância de referência o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) apesar desta substância ter algumas restrições é amplamente utilizada no mundo todo. Foi avaliada mensalmente a sensibilidade dos organismos ao dicromato de potássio e posteriormente foi criada uma carta controle para cada organismo-teste.

Para elaboração da carta controle de sensibilidade, calcularam-se dois desvios padrão (2σ) um superior e outro inferior a média obtida. Esses valores foram colocados na carta controle através de linhas perpendiculares ao eixo que apresentava os resultados dos

testes de toxicidade. A variabilidade dos resultados (Equação 3) dos testes foi analisada através do coeficiente de variação (CV), ou seja:

$$CV = \frac{S}{X} \cdot 100 \quad (3)$$

onde,

CV = Coeficiente de variação,

S = Desvio padrão

X = Média

De modo geral os ensaios ecotoxicológicos são considerados bons quando a variação dos resultados, expressa pelo CV, for $\leq 30\%$. Quando a sensibilidade dos organismos testes estiver fora da faixa definida em uma norma, para uma determinada substância de referência, é sinal de que ocorreu alguma alteração no sistema do ambiente do teste (ZAGATTO; BERTOLLETTI, 2008).

Para a *Daphnia magna* foi preparada uma solução estoque de dicromato de potássio de 10mg/L, onde foi diluídas concentrações de 0,5 – 0,8 – 1,0 – 1,2 – 2,0 mg/L. A faixa da CE50 24h está entre 0,6 - 1,7 mg/L de dicromato de potássio, de acordo com a norma ISO 6341/1996. Já para a *Daphnia similis* foi preparada uma solução estoque de 1mg/L de dicromato de potássio com as concentrações de 0,02 – 0,04 - 0,085 – 0,17 e 0,35 mg/L. A faixa aceitável do CE50 está entre 0,04 - 0,17 mg/L de dicromato de potássio. Os ensaios foram realizados nas mesmas condições do teste definitivo, em triplicata resultando em um total de 21 organismos por concentração, mantidos em câmara de germinação escura, sem alimentação e a leitura do teste feita após 48h de incubação.

A sensibilidade da bactéria *Vibrio fischeri* foi avaliada por meio da determinação da CE50 do sulfato de zinco heptahidratado ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) utilizada como substância de referência. De acordo com a norma da L5.227/01 (CETESB) a faixa aceitável de CE50 do sulfato de zinco é 3,0 a 10,0 mg/L.

4.4.4 Ensaios de toxicidade aguda com *Daphnias*

O teste de toxicidade aguda retrata o efeito deletério causado pela amostra na mobilidade dos organismos teste em um período de 48h. Os testes de toxicidade aguda com as

Daphnias foram realizados no laboratório de Saneamento (LABOSAN) do Departamento de Engenharia Hidráulica e ambiental na Universidade Federal do Ceará (UFC) na sala de ecotoxicologia. Para a realização do ensaio de toxicidade foram coletados em frascos de polipropileno cerca de 500 mL de resíduos de fossa séptica. O ensaio deve ser iniciado o mais rápido possível, não ultrapassando 12h contadas a partir da coleta, sendo que a amostra permaneça resfriada. Na impossibilidade de fazer os ensaios em 12h, a amostra deve ser mantida em temperatura inferior a 10°C sendo iniciado em até 48h. Na impossibilidade de realizar o ensaio em até 48h a amostra deve ser congelada e mantida abaixo de -10°C por até 60 dias.

O ensaio de toxicidade aguda permite determinar a concentração efetiva das amostras que causa imobilidade a 50% dos organismos jovens (CE50) expostos por um período de 48 horas. As condições do teste estão descritos na Tabela 8 e são baseadas no método de ensaio estabelecido pela norma ABNT NBR 12713:2009.

Tabela 8 – Resumo dos requisitos para o ensaio de toxicidade aguda

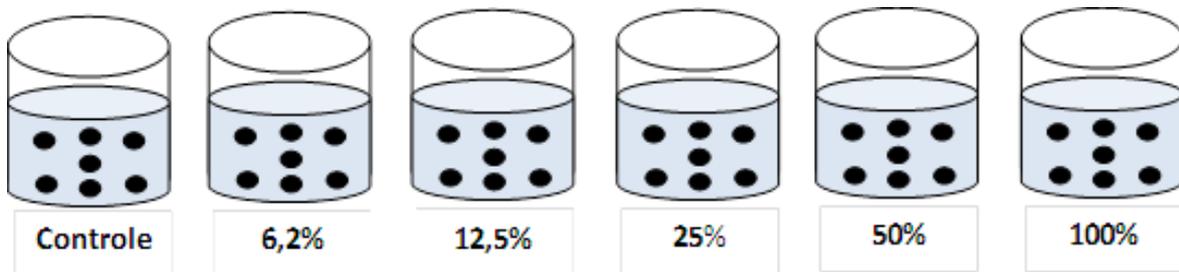
Requisitos	Espécie	
	<i>Daphnia similis</i>	<i>Daphnia magna</i>
Tipo de ensaio	Estático: 48 h	
Idade do organismo teste	6h a 24 h	2h às 26h
Água de diluição	Água reconstituída	
Volume mínimo da solução teste por organismo	2mL	
Numero mínimo de replicatas por diluição	02	
Numero mínimo de diluições	Cinco mais o controle	
Numero mínimo de organismo por diluição	20	
Alimentação	Nenhuma	
Temperatura	18°C a 22°C	
Fotoperíodo	Escuro ou 16h de luz	
Efeito observado	Imobilidade	
Expressão dos resultados	CE 50, FT, ou tóxico e não tóxico.	

Fonte: adaptado NBR 12713, 2009 (ABNT).

Primeiramente, foi realizado um teste preliminar que consiste em estabelecer um intervalo de concentrações dos efluentes, na qual se determina a menor concentração que causa imobilidade a 100% dos organismos, e a concentração mais elevada na qual não se observa a imobilidade dos mesmos.

Foi realizado um ensaio com cinco diluições da amostra e um controle (água de diluição) conforme mostra a Figura 14 com os percentuais de amostras que varia de 6,2% á 100% de amostra, para estabelecer um intervalo de concentração a ser utilizado no ensaio definitivo O ensaio preliminar ocorreu nas mesmas condições do ensaio definitivo na qual foi determinada a menor concentração que causa imobilidade e a maior na qual não se observa imobilidade. Os organismos foram transferidos para as soluções de forma aleatória, tendo o cuidado de liberar os organismos, próximo à superfície para evitar a entrada de ar na carapaça deles fazendo com que os mesmo flutuem.

Figura 14 – Teste preliminar de toxicidade aguda com as *Daphnias*



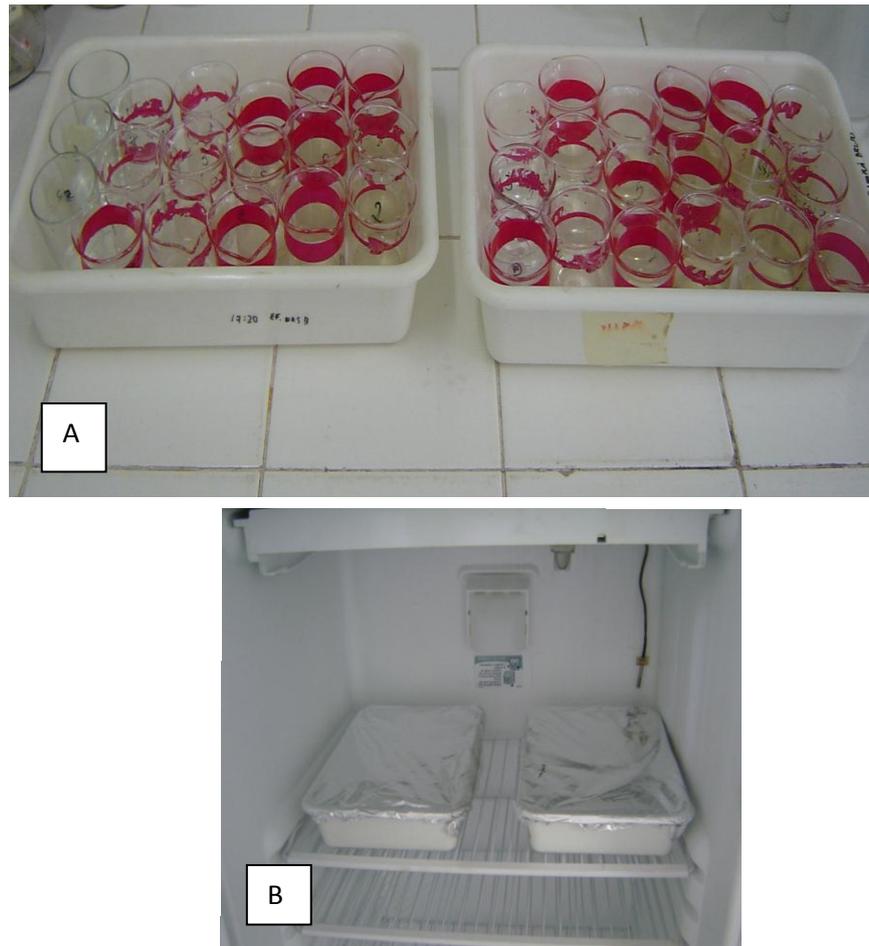
Fonte: a autora, 2011.

Após a finalização do teste preliminar observou-se o número de indivíduos que estavam imóveis / mortos em cada diluição. A partir destes resultados foi realizado o cálculo de imobilidade de indivíduos por concentração que foi expresso em CE50 48h (Concentração Efetiva), por meio do programa *Trimmed Sperm-Karber*, o que corresponde à concentração da amostra que causa efeito agudo (imobilidade/morte) em 50% dos organismos testados expostos 48 horas na solução-teste.

Após tomar conhecimento das concentrações no teste preliminar, preparam-se diluições das concentrações da amostra para o teste definitivo. A preparação do teste agudo foi realizada partindo da menor concentração de amostra (maior fator de diluição) para a maior concentração de amostra (menor fator de diluição), sendo iniciada pela preparação do

controle. Os ensaios preliminares e definitivos foram realizados em câmara de germinação com temperatura entre 18°C e 22°C por 48h, escuro e sem alimentação conforme a Figura 15.

Figura 15 – Teste de toxicidade aguda com *Daphnias*. A: Preparação do teste de toxicidade aguda, B: Teste acondicionado na câmara de germinação.



Fonte: a autora, 2011.

4.4.5 Ensaio de Toxicidade Aguda com *Vibrio Fischeri*

Os ensaios de toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* foram realizados no Laboratório de Qualidade de Águas (SELAQUA) do Departamento de Engenharia Hidráulica e ambiental na Universidade Federal do Ceará (UFC). As bactérias foram adquiridas comercialmente da empresa Ambriex®, na forma liofilizada e os ensaios foram realizados utilizando o sistema Microtox M-500 (Microbics) segundo a ABNT NBR 15411-3 (2006) e a

Norma CETESB (L5. 227). O sistema Microtox® (Figura 16) utiliza bactérias luminescentes para determinar a toxicidade de uma determinada amostra, através da verificação da quantidade de luz produzida pelas bactérias expostas a diferentes concentrações de uma amostra potencialmente tóxica, onde na presença dessas substâncias a bioluminescência diminui, sendo a quantidade de perda de luz proporcional à toxicidade da amostra.

O mecanismo de produção da luminescência, por ser um processo enzimático do metabolismo bacteriano, pode ser modificado ou sofrer danos por substâncias tóxicas. Esse resultado é utilizado para determinação da toxicidade das amostras. (CETESB, 1987).

Figura 16 – Microtox utilizado nos testes com a bactéria *Vibrio fischeri*



Fonte: a autora, 2011.

O Microtox® possui um fotômetro acoplado, onde têm um compartimento com poços que permite a manutenção do estoque de bactérias a $4^{\circ}\text{C} \pm 0,5$ e uma série de poços onde são preparadas a série de diluições com fator igual á 2,0. O critério de avaliação do ensaio é o decréscimo da luminescência medida após períodos de contato de 5, 15 e 30 minutos. Os testes foram feitos com auxílio do programa computacional *Microtox Omni Windows Software* que gera como resultado final um gráfico em que são plotadas as concentrações de exposição (CE20 e CE50) e o efeito tóxico presente.

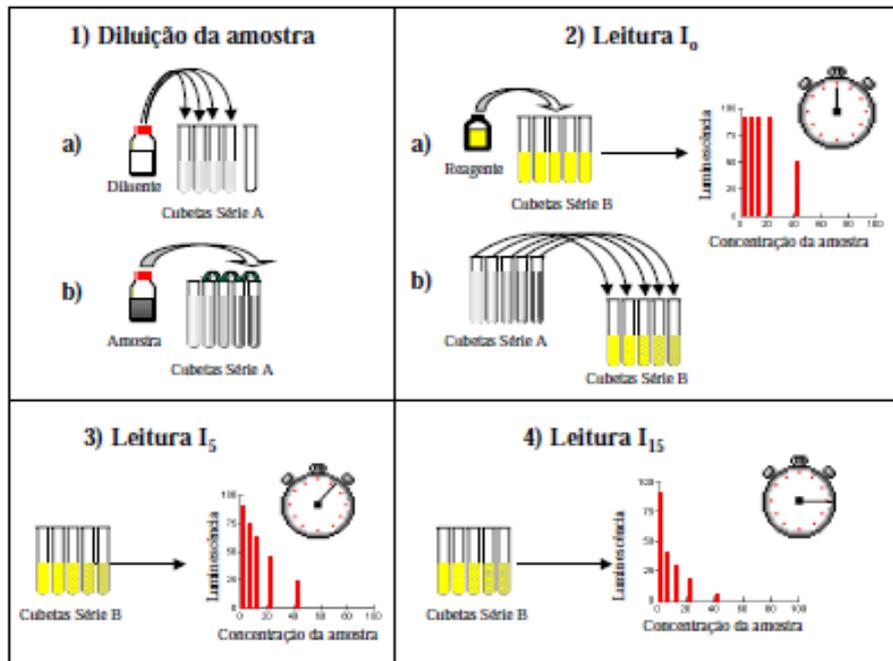
O procedimento do teste com o sistema Microtox® ocorre basicamente em quatro etapas: preparação da amostra, reconstituição do agente biológico, diluição da amostra e execução do teste como mostra a Figura 17.

Na preparação da amostra, alguns fatores devem ser observados, pois podem interferir no resultado final do ensaio de toxicidade aguda como valores de pH, oxigênio dissolvido, cor, salinidade da amostra e presença de substâncias nutritivas. O valor de pH ideal é na faixa de 6,0 á 8,5 e valores de oxigênio dissolvido menores que 0,5mg/L poderão causar efeito tóxico. Com relação à salinidade não é necessário o ajuste osmótico em amostra que possuam concentrações de 20 a 50g/L de NaCl ou de outros compostos que produza uma osmolaridade equivalente. Perdas de luminescência podem ser causadas por amostras altamente coloridas, recomenda-se fazer a correção da amostra. A presença de substâncias nutritivas de rápida biodegradação na amostra tais como uréia, peptona, extrato de levedura, em concentrações maiores que 100mg/L, pode provocar uma inibição da luminescência independente dos contaminantes presentes na amostra.

A bactéria liofilizada foi reidratada com uma solução de reconstituição (água ultrapura) que tenha condutividade inferior a 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Foi adicionado 1mL de água ultrapura, a $3^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$, na ampola do reagente biológico. Esse volume de água refrigerada é vertido de uma só vez no recipiente que contém as bactérias liofilizadas. Não utilizar pipeta para essa operação. A primeira leitura da luminescência (I_0) de bactéria foi feita antes de serem acrescentadas as amostras nas cubetas contendo apenas as bactérias e o diluente (solução de cloreto de sódio a 2%).

Em outra série de cubetas foram preparadas diferentes esquemas de diluição da amostra que resultem em uma diluição de fator igual a 2. As bactérias entram em contato com a série de diluição da amostra e as leituras da luminescência foram realizada após o tempo de 5, 15 e 30 minutos Os testes realizados plotaram uma curva estatisticamente aceitável, que permita a interpolação dos valores de CE20 e CE50.

Figura 17 - Esquema do procedimento do teste de toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri*



Fonte: CETESB, 2001.

4.5 Estudo Estatístico

Os resultados obtidos na análise de resíduos sépticos esgotados de caminhões limpa-fossa foram submetidos à análise estatística básica (estatística descritiva) onde foram obtidos valores máximos e mínimos, de tendência central (média, mediana) e valores de dispersão (desvio padrão, coeficiente de variação e quartiz). Optou-se pela utilização da mediana, devido à alta variabilidade dos dados obtidos como medida de tendência central. De acordo com Triola (2008) uma desvantagem da média é que ela é sensível a qualquer valor e podendo afetar os resultados, diferentemente da mediana que pode ser considerada como um “valor do meio”. A estatística desempenha um papel fundamental no planejamento, execução dos testes de toxicidade, análise e interpretação dos resultados obtidos nesses testes

Primeiramente para os testes de toxicidade aguda para *Daphnias* foi realizado a contagem de organismos imóveis em cada diluição, após o período de 48h. Depois de realizada a leitura dos organismos foi calculado o valor do CE50 através do programa *Trimmed Spearman-Kärber* que fornece o resultado com intervalo de 95% de confiança. Os resultados também foram expressos em Unidade Tóxica (UT) para facilitar a comparação e

fazer com que esses parâmetros exprimem uma relação direta com a toxicidade, como mostra a Equação 4 que corresponde ao valor de 100 dividido pelo CE50.

$$UT = 100/CE50 \text{ ou } UT = 100/CL50 \quad (4)$$

Os testes de toxicidade aguda para bactéria *Vibrio fischeri* foram realizados com auxílio do programa computacional *Microtox Omni Windows Software* que gera um estudo estatístico com intervalo de confiança de 95% e tem como resultado final um gráfico em que são plotadas as concentrações de exposição (CE20 e CE50) e o efeito tóxico presente.

5 RESULTADOS

5.1 Considerações iniciais da caracterização dos resíduos sépticos

Os resultados das caracterizações das amostras coletadas apresentaram bastante diferença, pois cada amostra provinha de um tipo de sistema, tempos de esgotamento, populações diferentes, etc. Após a caracterização físico-química das amostras, verificou-se que a maioria dos parâmetros analisados apresentaram altos valores de desvio padrão, coeficiente de variação, grande diferença entre valores obtidos de média e mediana, indicando que os resultados não apresentam uma distribuição normal.

Para verificar essa distribuição foi realizado o teste de normalidade “W” - *Shapiro-Wilk*, onde para a distribuição ser considerada normal o valor de p deve ser maior que 0,05 ($p > 0,05$) e é utilizado para amostras pequenas.

O teste de normalidade para as amostras de resíduos de caminhão limpa-fossa em sua maioria apresentou dados bastantes variáveis, com exceção de pH, temperatura, alcalinidade e condutividade elétrica que apresentaram uma distribuição normal. A Figura 18 mostra o gráfico dos quantis normais ou gráfico de probabilidades normais que é usado para determinar a normalidade graficamente.

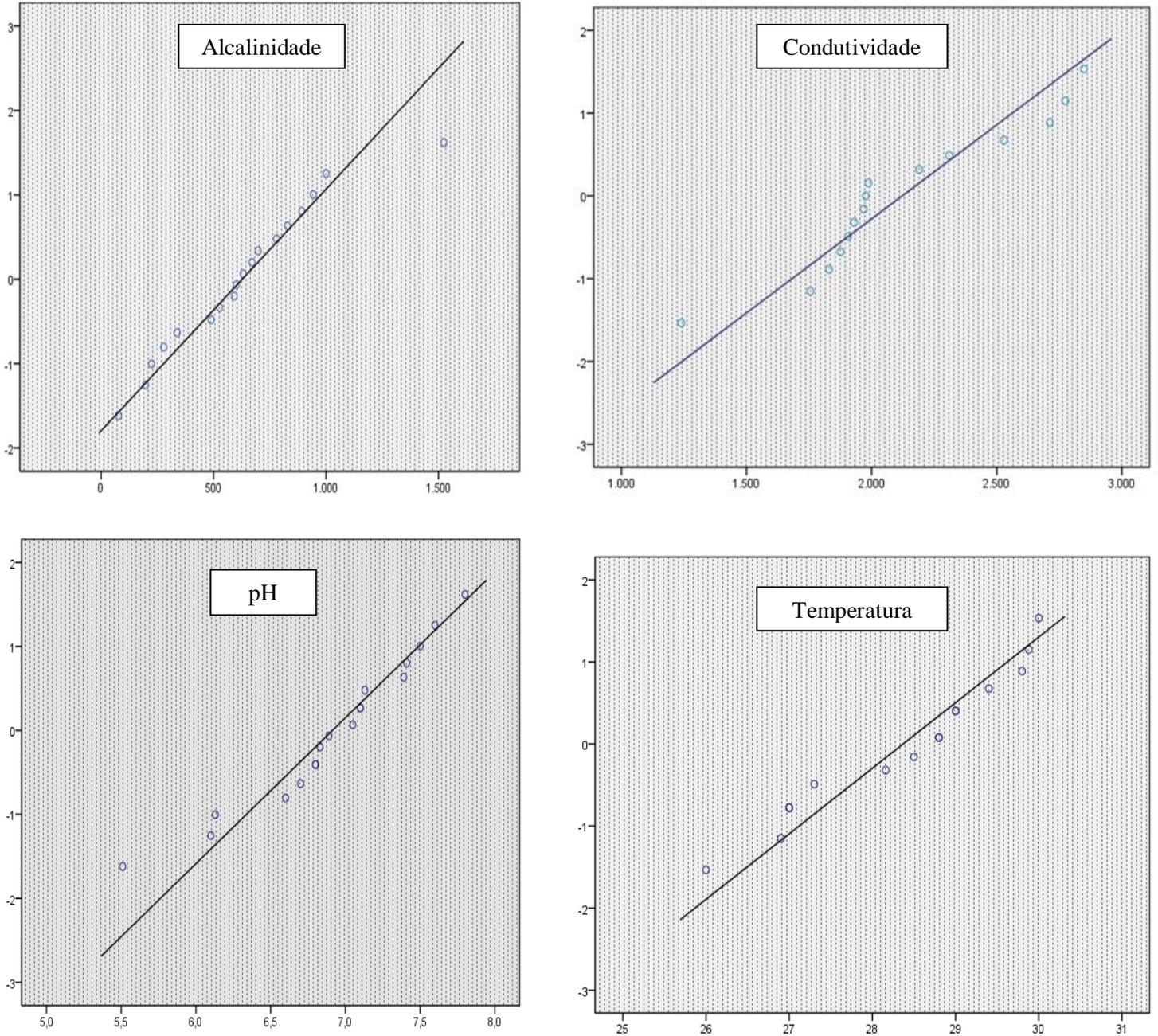
Podemos observar que os dados estão normalmente distribuídos, pois os pontos de dados estão próximo à linha diagonal. Se os pontos de dados se afastam da linha de uma forma não linear óbvia, os dados não são normalmente distribuídos. A Tabela 9 mostra os valores de nível de confiança (W) e nível de significâncias (p) das variáveis analisadas, sendo que em todos os parâmetros os valores de $p > 0,05$, obtendo uma distribuição normal.

Tabela 9 – Nível de confiança e de significância das variáveis, temperatura, condutividade pH e alcalinidade.

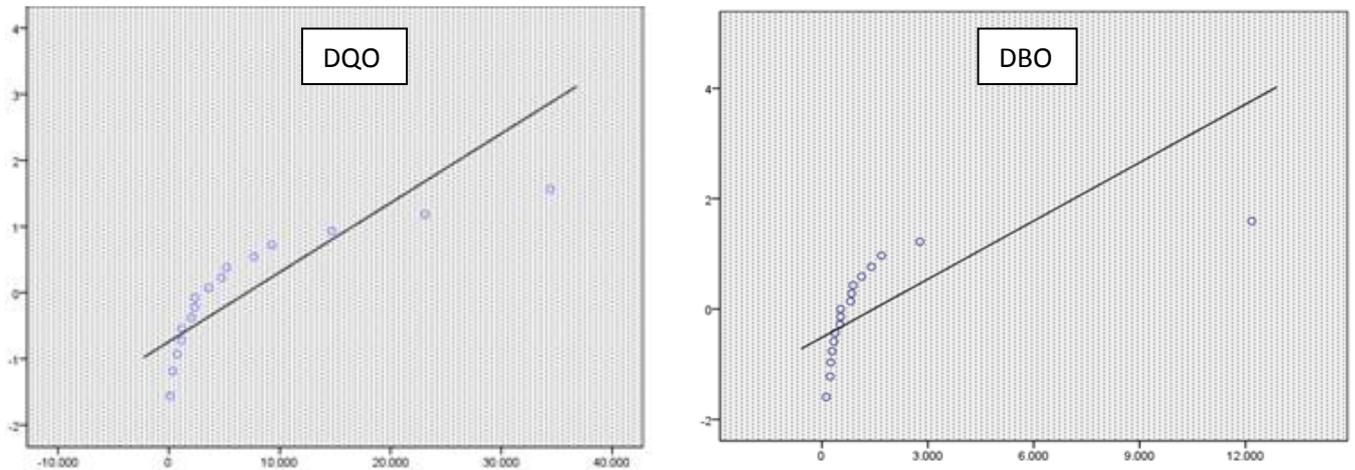
Teste de normalidade Shapiro-Wilk		
Variáveis	Valores	
	W	p
Temperatura	0,928	0,250
Condutividade	0,915	0,120
pH	0,948	0,392
Alcalinidade	0,957	0,536

Fonte: a autora, 2012.

Figura 18 – Teste de normalidade Shapiro-Wilk para alcalinidade, condutividade elétrica, pH e temperatura



Conforme o gráfico quantis normais para as variáveis DQO e DBO da Figura 19, foi observado que não existe uma distribuição normal para nenhum dos dois parâmetros analisados, porque os pontos de dados estão afastados da linha diagonal não apresentando uma distribuição normal dos dados.

Figura 19 – Teste de normalidade Shapiro – Wilk ($p < 0,05$)

Fonte: a autora, 2012.

Os outros parâmetros analisados obtiveram um comportamento semelhante à DQO e DBO não apresentaram uma distribuição normal obtendo valores de $p < 0,05$ conforme a Tabela 10.

Tabela 10 – Nível de confiança e de significância dos dados analisados

Teste de normalidade Shapiro-Wilk ($p < 0,05$)		
Variáveis	Valores	
	W	p
DQO	0,721	0,001
DBO	0,791	0,002
Fósforo	0,613	0,0005
Nitrito	0,462	0,0004
Nitrato	0,460	0,001
Amônia	0,952	0,008
NTK	0,971	0,0097
ST	0,668	0,000
STV	0,672	0,000
STF	0,679	0,000
SST	0,606	0,000
SSV	0,558	0,000
SSF	0,730	0,000

Fonte: a autora, 2012.

5.2 Caracterização físico-química dos resíduos esgotados de caminhão limpa - fossa.

Os dados gerais das características físico-químicas mostraram grande discrepância de valores máximos e mínimos e por isso adotou-se a mediana como medida central, pois a utilização da média aritmética como medida central poderia ser influenciada pelos valores discrepantes encontrado nos resultados. Foi encontrado também um intervalo de confiança (IC) que é um intervalo estimado de um parâmetro estatístico, que ao invés de estimar o parâmetro por um único valor, é dado um intervalo de estimativas prováveis, desvio padrão (DP) que é uma medida da variação dos valores em torno da média e o coeficiente de variação (CV%) que é expresso como um percentual (TRIOLA, 2008).

5.2.1 Alcalinidade total, pH, temperatura e condutividade elétrica.

A Tabela 11 mostra os resultados da estatística descritiva para os parâmetros de alcalinidade total, pH, temperatura e condutividade elétrica.

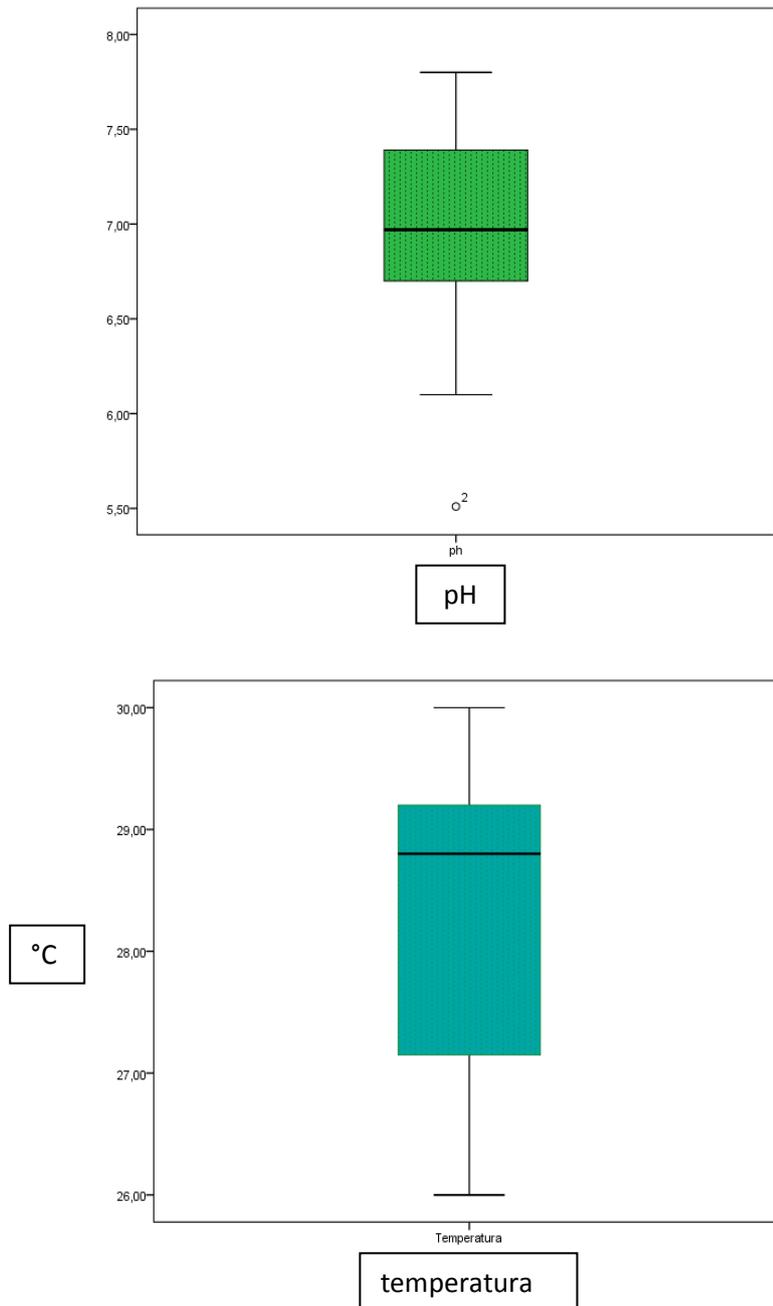
Tabela 11 – Estatística descritiva para as variáveis: alcalinidade total, pH, temperatura e condutividade elétrica em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

Parâmetros	<u>Estatística descritiva</u>						Intervalo de Confiança 95%	%CV
	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	DP			
Temperatura (°C)	28,36	28,8	30	26	1,25	27,6 - 29,0	4,40	
Condutividade (µs/cm)	2122	1976	2848	1239	440	1878 - 2365	20,74	
pH	7,0	6,97	7,8	5,51	0,57	6,6 - 7,1	8,25	
Alcalinidade (mg/L CaCO ₃)	627,37	616	1524	77,5	348,9	453,0 - 800,0	55,61	

Fonte: a autora, 2012.

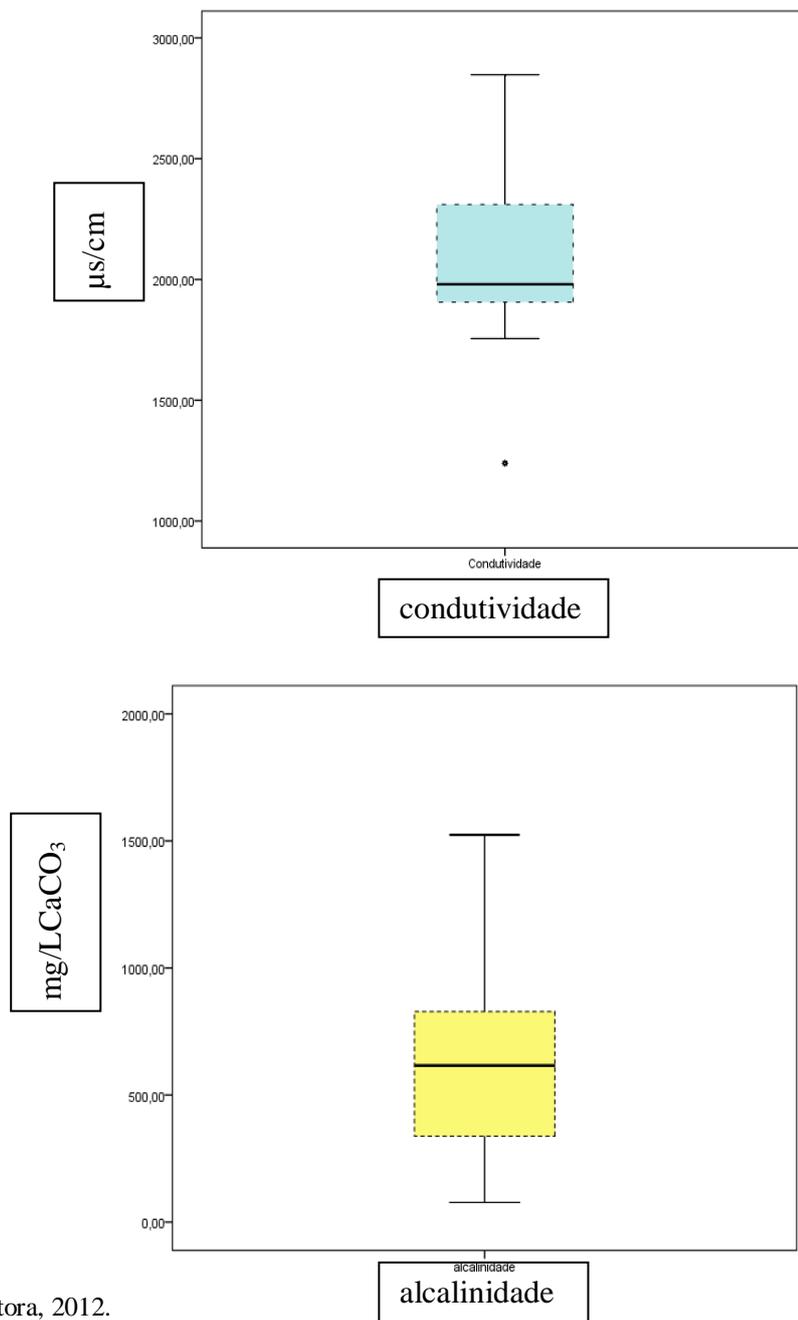
Os parâmetros que menos variaram foram pH e temperatura, com média e mediana praticamente iguais, (28,3 - 28,8 para temperatura e 6,91 – 6,97 para o pH) e desvio padrão em torno de 1. A variação do pH e temperatura pode ser vista na Figura 20 através do gráfico Box-plot com percentis de 25% e 75%.

Figura 20 – Box-plot com percentis de 25% e 75% para pH e temperatura em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Para alcalinidade total e condutividade elétrica a média e mediana foram bem próximas, mas o desvio padrão e o coeficiente de variação mostram que houve bastante diferença nos resultados com máximos e mínimos para alcalinidade de 1524 e 77,5 mg/L CaCO_3 respectivamente e para condutividade elétrica de 2848 e 1239 $\mu\text{s}/\text{cm}$ respectivamente. A Figura 21 mostra a variação da condutividade elétrica e alcalinidade através do gráfico Box-plot com percentis de 25% e 75%.

Figura 21 - Box-plot com percentis de 25% e 75% para condutividade elétrica e alcalinidade em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

5.2.2 DQO e DBO

Os resultados das medianas encontradas para DQO e DBO foram, respectivamente, 2976,5 e 530 mg/L como mostra a Tabela 12. Os valores máximo e mínimo para DQO foram de 34.432 e 124 mg O₂/L e para DBO foram de 12.175 e 120mgO₂/L.

Tabela 12 – Estatística Descritiva para as variáveis DQO e DBO em mg/L de amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

Parâmetros	Estatística descritiva						%CV
	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	DP	Intervalo de Confiança 95%	
DQO (mg O ₂ /L)	7067,25	2976,5	34432	124	9536,92	1985,38 - 12149,72	134,95
DBO (mg O ₂ /L)	1462,52	530	12175	120	2840	2,26 - 2922,79	194,19

Fonte: a autora, 2012.

Segundo Von Sperling (2005) para esgoto doméstico bruto a relação DQO/DBO é baixa (< 2,5) onde possui uma elevada fração biodegradável, já a DQO/DBO é intermediária (entre 2,5 a 3,5) onde não é elevada a fração biodegradável e a relação DQO/DBO é elevada (3,5 ou 4,0) quando a fração não biodegradável é elevada. A relação DQO/DBO verificada no estudo foi de 5,61 acima da relação citada para esgotos domésticos (1,7 a 2,4) por Von Sperling (2005). A relação encontrada no estudo apesar de estar acima que a relação para esgoto doméstico, esta condizendo com a pesquisa de resíduos de tanques e fossas sépticos da literatura nacional e estrangeira, sendo que de acordo com a Tabela 14 foram encontrados valores que variam de (2,0 a 9,0).

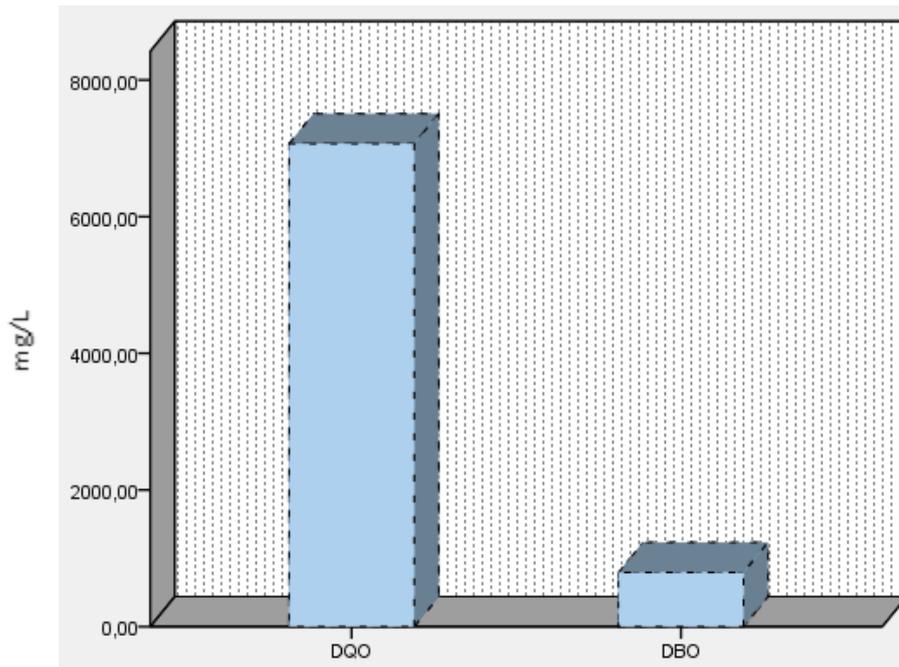
Tabela 13 – Relação DQO/DBO encontrados de estudos de alguns autores de resíduos sépticos

Pesquisa	Cassini (2003)	USEPA (2002)	Koottatep <i>et al.</i> (2000)	Leite <i>et al.</i> (2006)	Belle <i>et al.</i> (2004)	Ratis (2009)	Menezes <i>et al.</i> (2001b)	Rocha e Sant'Anna (2005)
DQO/DBO	3,6	9,0	(6,2 -9,0)	5,0	2,0	3,6	2,8	2,7

Fonte: a autora, 2011.

A Figura 22 mostra a variação da DQO e DBO através do gráfico de barra.

Figura 22 – Variação das amostras de resíduos sépticos para DQO e DBO em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

5.2.3 Sólidos

A série de sólidos foram um dos parâmetros que mais houve variações. A média e a mediana da concentração de sólidos totais foi de 8171 e 3780 mg/L respectivamente. A parcela volátil dos sólidos totais apresentou média de 5364 mg/L e mediana de 2500 mg/L. Já a fração fixa obteve resultados de concentrações para média de 2806 mg/L e mediana de 1400 mg/L.

A concentração de sólidos suspensos obteve média de 5032 mg/L e mediana de 2700 mg/L. A fração volátil encontrada obteve resultados de média e mediana de 3586 e 1500 mg/L respectivamente e a fração fixa de 1446,68 e 1000 mg/L. A Tabela 15 mostra a estatística descritiva para a série de sólidos totais e sólidos suspensos. Os sólidos sedimentáveis na maioria das análises ultrapassou a marca de 100 ml/L. Na literatura, Tachini

et. al (2006) apresenta uma média de 49.593mg/L de sólidos totais em Curitiba/PR e Ratis (2009) apresenta uma média de 3.557 mg/L em Natal/RN, verificando uma ampla faixa de concentrações.

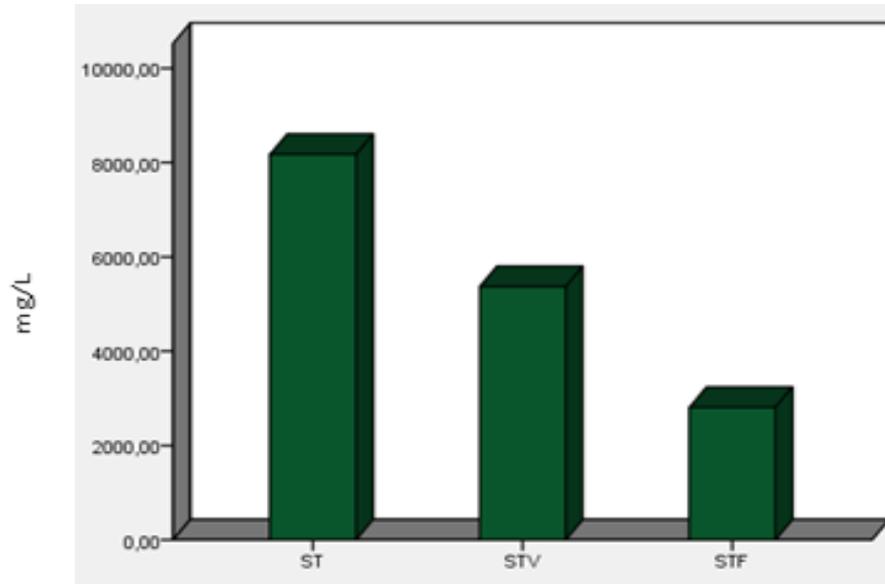
Tabela 14 – Estatística descritiva para as serie de sólidos totais e suspensos em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

<u>Estatística descritiva</u>							
Parâmetros	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	DP	Intervalo de Confiança 95%	%CV
ST (mg/L)	8171	3780	4140	1220	10537,71	3092 - 13250	128,96
STV (mg/L)	5364	2500	27200	800	6950	2014 - 8714	129,55
STF (mg/L)	2806	1400	14200	280	3629	1056 - 4555	129,33
SST (mg/L)	5032	2700	28000	500	7340,78	1494 - 8570	145,86
SSV (mg/L)	3586	1500	21000	400	5676,90	849,92 - 6322,28	158,30
SSF (mg/L)	1446	1000	7000	100	1751,22	602,62 - 2290,74	121,05

Fonte: a autora, 2012.

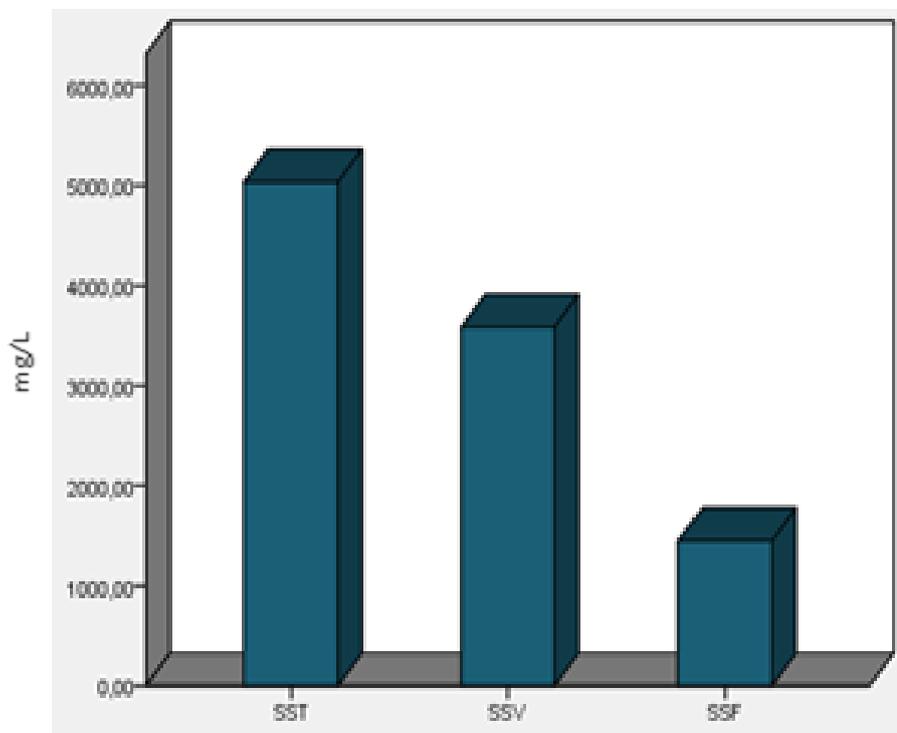
A Resolução CONAMA 375/2006 diz que para fins agrícolas, o lodo de esgoto ou algum produto derivado, será considerado estável se a relação entre sólidos voláteis e sólidos totais for inferior a 0,7. A relação entre sólidos voláteis e sólidos totais (SV/ST) indica a fração orgânica dos sólidos do lodo. Quanto maior esta relação, maior será a quantidade de matéria orgânica, sendo esta a responsável pelo mau odor do lodo. No estudo a relação de SV/ST encontrada foi de 0,6. As Figuras 23 e 24 mostram os resultados das concentrações de sólidos.

Figura 23 – Variação das amostras de resíduos sépticos para ST, STV, STF em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

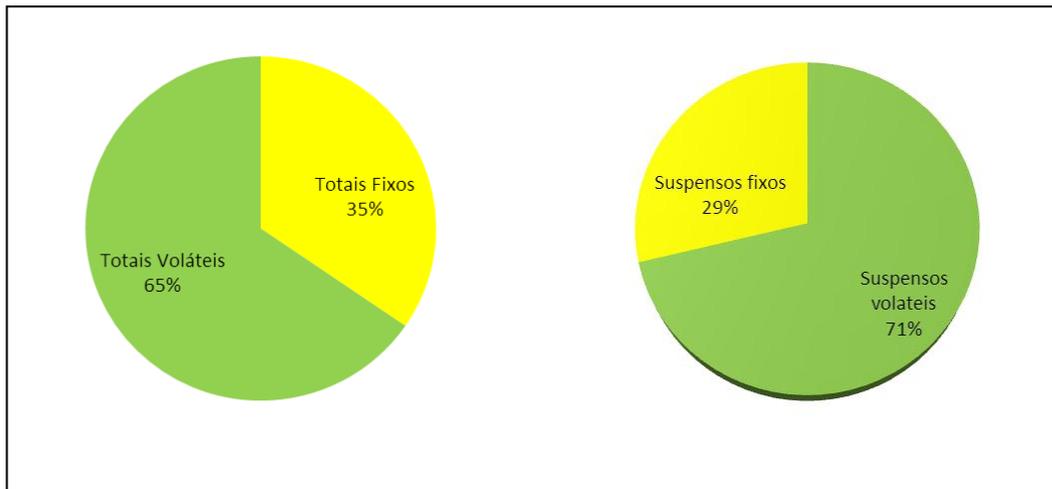
Figura 24 – Variação das amostras de resíduos sépticos para SST, SSV, SSF em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

A maior parcela de sólidos totais corresponde à fração em suspensão com teor de 71%, e o restante corresponde à fração dissolvida que foi de 29%. A fração volátil predominou tanto nos sólidos totais com 65,7% voláteis e 34,3% fixa como nos sólidos em suspensão com 71,25% voláteis e 28,75% fixa. A Figura 25 mostra o gráfico com as frações voláteis e fixas.

Figura 25 – Frações voláteis e fixas dos sólidos em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

5.2.4 Série de Nitrogênio e fósforo

As concentrações de nitrito e nitrato variaram bastante com picos de 0,03 á 27,1 mg N₂/L de nitrito, e 0,01 á 16 mgN₂/L de nitrato. A mediana foi de 0,22 e 0,9 mgN₂/L respectivamente. A amônia apresentou mediana no valor de 58,94 mg NH₃/L, o nitrogênio orgânico no valor de 40,7 mgN₂/L e o NTK apresentou uma mediana no valor de 99,53 mgN₂/L. A mediana para fósforo total foi de 4,36 mgP/L com máximos de 54,7mgP/L e mínimo de 1,1 mgP/L. A Tabela 15 mostra a estatística descritiva para a série de nitrogênio: nitrito, nitrato, amônia, nitrogênio orgânico, NTK e para fósforo total.

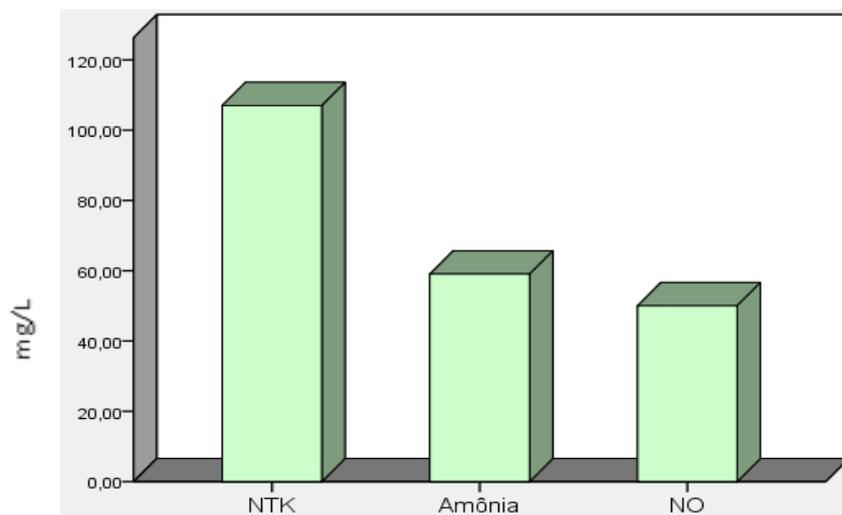
Tabela 15 – Estatística descritiva para série de nitrogênio em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

<u>Estatística descritiva</u>							
Parâmetros	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	DP	Intervalo de Confiança 95%	%CV
Nitrito (mg N ₂ /L)	3,16	0,22	27,1	0,03	7,57	0,3 - 6,7	239,56
Nitrato (mg N ₂ /L)	1,85	0,9	16	0,01	3,82	0,1 - 3,8	206,49
NO (mg N ₂ /L)	50,03	40,7	109,8	14,0	31,57	27,45 - 72,62	63,10
Amônia (mg NH ₃ /L)	62,85	58,94	201	14,7	26,12	36,46 - 89,34	41,56
NTK (mg N ₂ /L)	107,01	99,53	199	29,41	47,65	73,07 - 140,94	44,53
Fósforo total (mg P/L)	10,44	4,36	54,7	1,1	15,8	2,02 - 18,86	151,34

Fonte: a autora, 2012.

A Figura 26 mostra a variação do nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico e o NTK. Observa-se que o nitrogênio amoniacal predominou sobre a o nitrogênio orgânico, logo o nitrogênio amoniacal representa 59,2% e o NO 40,8% sendo a amônia a maior parcela do NTK. A predominância da amônia pode acontecer pelo fato que, em meio anaeróbico ocorrer à fase de amonificação, onde o nitrogênio orgânico é convertido em amônia e na ausência do oxigênio a amônia não sofre o processo de nitrificação, demonstrando boa amonificação da matéria orgânica.

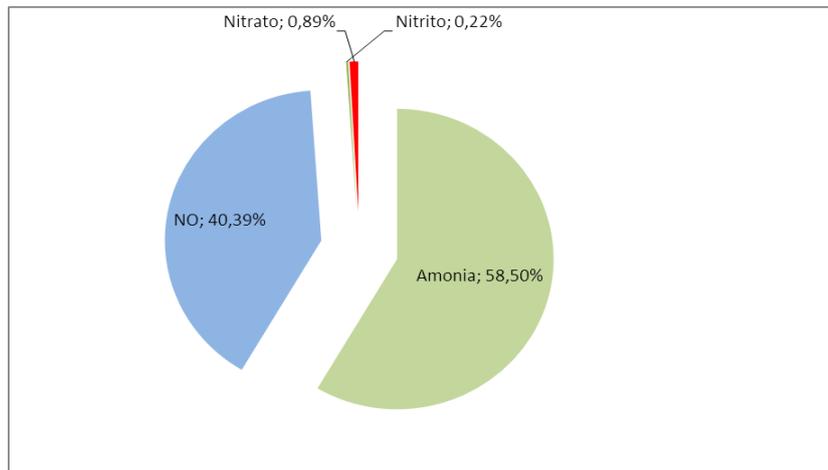
Figura 26 – Variação das concentrações de amônia, NO e NTK em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

A literatura nacional apresenta algumas variações com relação à série de nitrogênio. Borges (2009) obteve mediana de NTK e amônia na concentração de 138 mgN/L e 95mgN/L respectivamente. Ratis (2009) apresentou mediana de NTK e amônia na concentração de 92,6 mgN/L e 64,6 mgN/L respectivamente. A Figura 27 representa as frações dos nitrogênios encontrados no estudo, onde a amônia obteve 58,50% do nitrogênio total, o NO obteve 40,39% e o nitrito e nitrato obtiveram 0,22% e 0,89% respectivamente.

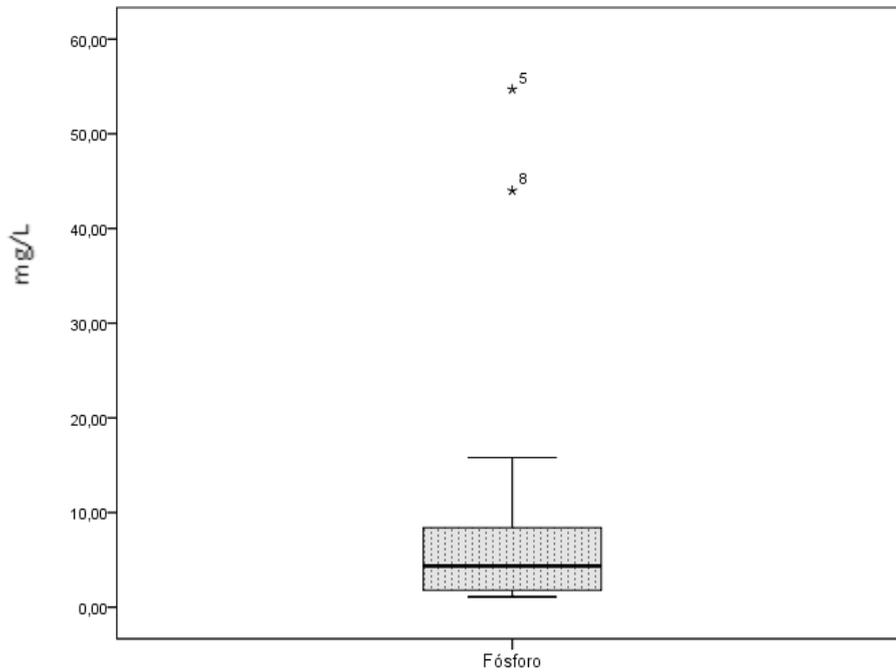
Figura 27 – Frações do nitrogênio em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

A Figura 28 mostra a variação do fósforo através do gráfico Box-plot com percentis de 25% e 75%. O gráfico apresenta dois pontos discrepantes (*5 e *8), demonstrando as variações que ocorreram durante as análises. O descarregamento de grandes quantidades de detergente pode ter ocasionado essa variação, pois os detergentes têm altos teores de fósforo e o uso doméstico desses detergentes é a maior causa da poluição dos rios pelo fósforo.

Figura 28 - Box-plot com percentis de 25% e 75% para o fósforo em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

As variações dos resultados demonstram grande variabilidade das amostras, pois depende bastante do tipo de esgotamento sanitário, do tipo de região. A Tabela 16 compara os resultados de diversos autores que analisaram os resíduos de fossa e tanque sépticos em diversas regiões do País, onde se observa resultados de mediana bem amplos para cada variável analisada.

Os valores encontrados foram bem próximos ao estudo feito por Ratis (2009) que avaliou os resíduos de caminhões limpa-fossa da cidade de Natal-RN. Tanto o estudo feito por Ratis (2009) como o estudo feito em Fortaleza determinou que a fração de sólidos voláteis prevaleceu nos dois estudos e com relação às frações de nitrogênio a que prevaleceu foi a amônia.

Tabela 16 – Comparação da mediana de diversos autores para caracterização de lodos de tanques sépticos.

<u>Parâmetros</u>	<u>Pesquisas</u>					
	Leite <i>et al.</i> (2006)	Jordão e Pessoa (2005)	Tachini (2002)	Meneses (2001)	Ratis (2009)	A autora (2012)
pH	-	-	-	6,9	6,68	6,97
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L ⁻¹)	-	-	-	498	391	616
Condutividade (µS/cm)	-	-	-	-	964	1976
DBO (mg O ₂ L ⁻¹)	1.863	6.000	11.424	2.434	973	530
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	9.419	-	23.835	6.895	3.549	2976,5
Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)	9.267	-	49.593	12.880	3.557	3780
Sólidos Suspensos Totais (mg.L ⁻¹)	-	15.000	37.731	7.091	2.264	2700
Sólidos Totais Fixos (mg.L ⁻¹)	4.399	-	-	2.824	955	1400
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	-	7.000	-	2.246	1.605	1500
Sólidos Totais Voláteis (mg.L ⁻¹)	4.868	-	29.685	3.518	2.480	2500
Sólidos Sedimentáveis (mg.L ⁻¹)	209	-	579	266	75	>100
Nitrogênio Total (mg N ₂ .L ⁻¹)	-	700	-	119,68	92,6	99,53
Nitrogênio Amoniacal (mg. NH ₃ L ⁻¹)	-	400	-	88,87	64,6	59
Fósforo Total (mg. P L ⁻¹)	-	250	-	18,05	40,3	4,36

Fonte: adaptado de Leite *et al.*(2006), Jordão e Pessoa (2005), Tachin (2002), Meneses(2001), Ratis (2009), a autora (2012).

5.3 Caracterização Microbiológica e metais pesados.

5.3.1 Coliformes fecais

A Tabela 17 mostra os resultados das médias para coliformes totais e fecais.

Tabela 17 – Concentrações das medias para coliformes totais e fecais em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

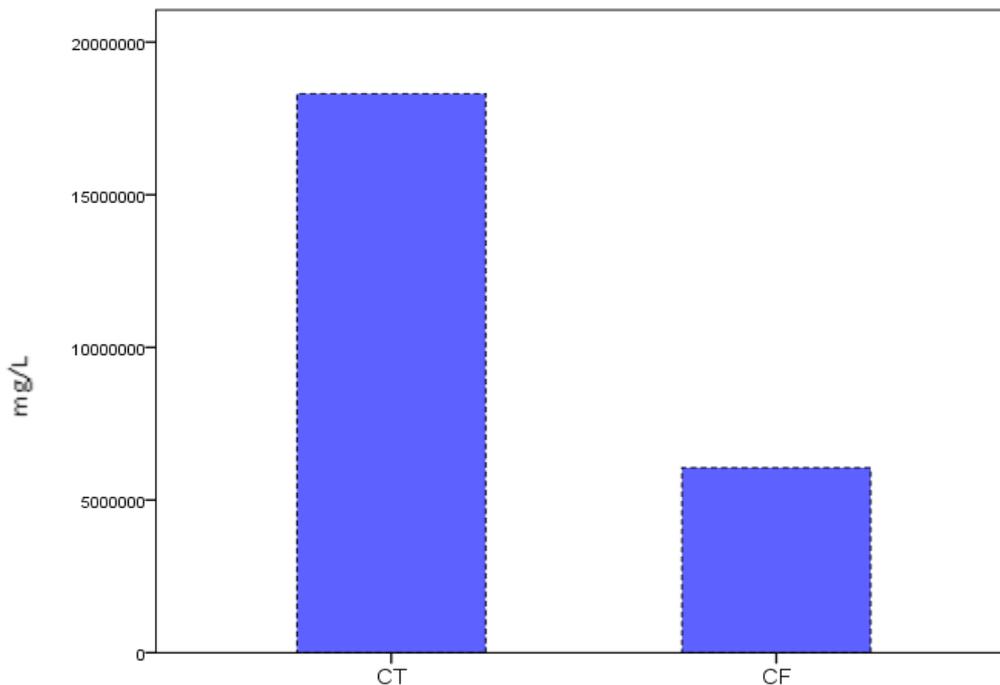
Coliformes Totais (NMP 100 ml/L)	Coliformes Fecais (NMP 100 ml/L)
1,8 x 10 ⁷	6,06 x10 ⁶

Fonte: a autora, 2012.

De acordo com a CONAMA 375/ 2006 só é permitida a aplicação de lodo de esgoto se a concentração de coliformes totais for menor que 10^3 NMP, pois acima dessa concentração, a utilização do lodo de esgoto requer estudos de avaliação de risco que demonstrem a segurança do uso desse lodo. No estudo foram encontrados valores bem acima do recomendado pela CONAMA com média de $1,8 \times 10^7$ NMP para coliformes totais e média de $6,06 \times 10^6$ NMP para coliformes fecais.

No caso da utilização desse lodo de fossa e tanques sépticos a CONAMA 375/2006 recomenda para remoção desses patógenos a técnica da compostagem confinada ou em leiras aeradas ou com o revolvimento das leiras pelo menos cinco dias ao longo do processo. A Figura 29 mostra o gráfico de barras onde apresenta as variações de coliformes totais e fecais presente nas amostras coletadas.

Figura 29 – Variação das concentrações de coliformes totais e fecais em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

5.3.2 Caracterização de metais pesados

Os metais pesados, dependendo das concentrações, podem causar riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Os elementos Cd, Ni, Pb e Hg se acumulam podendo torna-se

tóxico e causar problemas a saúde humana. A CONAMA 357/2006 estabelece critérios para o uso na agricultura de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados e determina a concentrações máximas permitida no lodo de esgoto. A Tabela 18 compara resultados de diversos autores que avaliaram as concentrações de metais pesados encontradas em resíduos provenientes de tanques e fossas sépticas.

Tabela 18 – Concentrações de metais pesados de diversos autores

Parâmetro (mg/Kg)	<i>Pesquisas</i>				
	USEPA (2002)	Leite, Inguza, Andreoli (2006).	Borges (2009)	Limite para CONAMA 375/2006	A autora (2012)
Cádmio	0,27	3,0	28,3	39	0,72
Cromo	0,92	14	100	1000	1,93
Manganês	3,97	-	139	-	5,43
Níquel	0,75	15	95,5	420	10,63
Zinco	27,4	270	353	2800	28,8
Chumbo	-	35	230	300	21,2

Fonte: USEPA (2002); Leite, Inguza, Andreoli (2006); Borges (2009); CONAMA 357/2006, a autora (2012).

Os resultados encontrados no estudo foram bem próximos aos resultados da USEPA (2002). De acordo com os resultados nota-se que os valores obtidos para as análises de metais foram inferiores ao limite máximo estabelecido pela CONAMA 375/ 2006 para que o lodo possa ser utilizado na agricultura. A presença de metais na composição do lodo pode tanto promover a reciclagem dos nutrientes como melhorar a fertilidade do solo, mas também em grandes concentrações pode prejudicar a agricultura com acúmulo de metais nas plantas. De acordo com os resultados encontrados de determinados metais analisados como cádmio, cromo, manganês, níquel zinco e chumbo, o lodo de fossa séptica poderia ser usado na agricultura em relação a esses metais pesados, pois apresentou baixos valores em relação ao limite estabelecido pela CONAMA 375/2006.

5.4 Resultados ecotoxicológicos

Os ensaios de sensibilidade e a construção da carta controle foram realizados periodicamente de acordo com a norma NBR 12713/2009 (*Daphnias*) e NBR 15411-3/2006 (Bactéria *Vibrio fischeri*). Segundo Knie e Lopes (2004) a ISO 6341/96 indica que o ensaio de sensibilidade para *Daphnia magna* deve ser realizado dentro de 24 horas. Os ensaios com a *Daphnia similis* foi realizado dentro de 48h e para bactéria *Vibrio fischeri* foi realizado em um período de 30 minutos

5.4.1 Ensaio de sensibilidade - Carta Controle

Para a construção da carta controle foram calculados a média dos resultados de CE50 (X), coeficiente de variação (CV) e dois valores de desvios-padrão (2σ) superior e inferior a média obtida, onde esses valores foram grafados na carta controle através de linhas perpendiculares ao eixo que apresenta os resultados dos ensaios de toxicidade. Segundo a NBR 12713/2009 os resultados que ultrapassarem os limites de controle ($\pm 2\sigma$) ao longo do tempo não devem ser utilizados na carta controle.

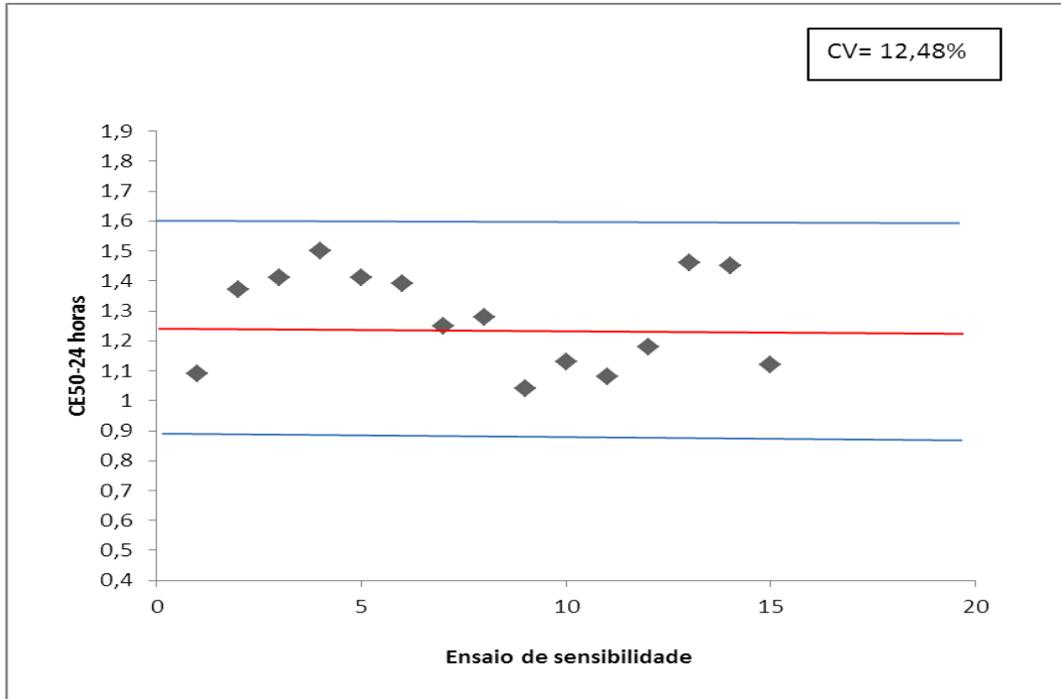
De acordo com a Figura 31 pode-se observar que os resultados de CE50 para os ensaios de sensibilidade realizados com a *Daphnia magna*, estão dentro dos limites superior (LS) e inferior (LI) da carta controle indicando que o cultivo foi realizado de maneira correta, validando os testes de toxicidade. O valor médio encontrado de CE50 foi de 1,25 que está dentro da faixa estabelecida para *Daphnia magna* (0,6 a 1,7 mg $K_2Cr_2O_7/L$) de acordo com a norma ISO 6341/96. Os valores de obtidos de LS =1,6 e LI =0,90 (que correspondem às linhas azuis) foram grafados na carta controle. O CV obtido foi de 12,48% e o DP foi de 0,16.

O ensaio de sensibilidade com o organismo *Daphnia similis* foi realizado em um período de 48h, onde foi encontrado um valor médio de 0,075 que está dentro da faixa estabelecida para *Daphnia similis* (0,04 a 0,17 mg $K_2Cr_2O_7/L$). A Figura 32 mostra a carta controle com os LI e LS grafados com valores de 0,033 e 0,127 respectivamente. O CV obtido foi de 26,7% e DP = 0,02.

A bactéria *Vibrio fischeri* apresentou sensibilidade ao sulfato de zinco heptahidratado com valor médio de 5,2 em 30 minutos de exposição como mostra a Figura 32. De acordo com a NBR 15411-3/2006 a faixa de sensibilidade é de 3 a 10 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O/L$, permanecendo dentro da faixa estabelecida pela norma. O LS e LI apresentaram valores correspondentes a 6,6 e 4,0 respectivamente, com CV = 6,7% e DP=

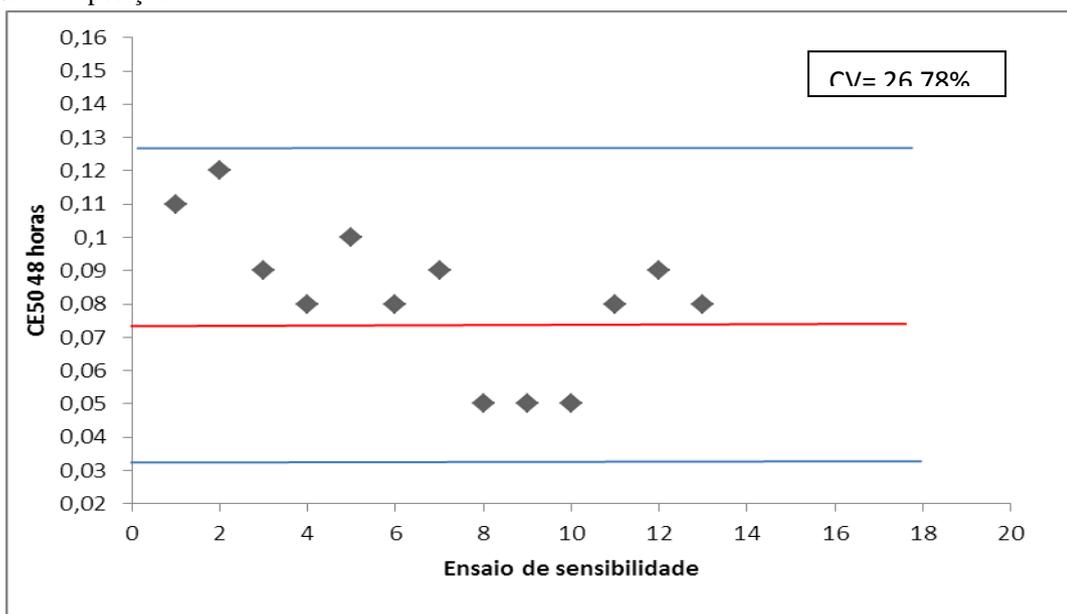
0,33. De acordo com Zagatto e Bertoletti (2008) quando se obtém um $CV < 30\%$, o método ecotoxicológico é considerado bom.

Figura 30- Carta controle de sensibilidade com o organismo *Daphnia magna* exposta ao dicromato de potássio em 24h de exposição.



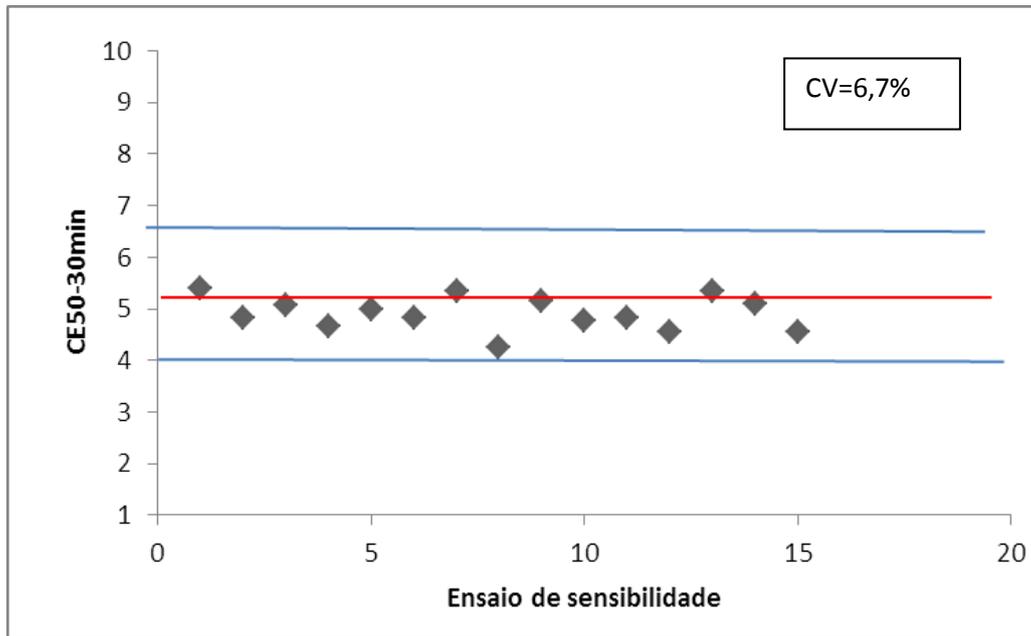
Fonte: a autora, 2011.

Figura 31- Carta controle de sensibilidade com o organismo *Daphnia similis* exposta ao dicromato de potássio em 48h de exposição.



Fonte: a autora, 2012.

Figura 32- Carta controle de sensibilidade da bactéria *Vibrio fischeri* exposta ao sulfato de zinco heptahidratado em 30 minutos de exposição.



Fonte: a autora, 2011.

5.3.2 Ensaio de toxicidade aguda

Primeiramente, determinou qual seria o intervalo de concentração a ser utilizado no teste definitivo, através de um teste preliminar. Obtiveram-se as seguintes concentrações: 20, 40, 60, 80 e 100% de amostra. Depois foram analisados os parâmetros de pH, oxigênio dissolvido (OD) e dureza. A Tabela 19 apresenta os resultados encontrados.

Tabela 19 – Média das variáveis dureza, OD e pH de amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.

Variáveis	Média	Máximo	Mínimo
Dureza (mgCaCO ₃ /L)	161	165	144
pH	7,3	8,0	7,1
OD (mg/L)	1,5	2,0	0,9

Fonte: a autora, 2012.

A variável de pH para *Daphnia similis* permaneceu dentro dos padrões para se obter uma viabilidade dos resultados e para *Daphnia magna* ficou próximo. Os valores da concentração de oxigênio dissolvido foram baixos, e para não haver interferência, as amostras foram aeradas num período de uma hora para que o oxigênio dissolvido aumentasse e o valor não compromettesse os resultados. A média dos valores de dureza encontrada foi de 161mg CaCO₃/L com máximo de 165 e mínimo de 144mg CaCO₃/L. Os valores de dureza para *Daphnia magna* estão próximo do recomendado, mas para *Daphnia similis* estão abaixo do recomendado (40 á 48 mg CaCO₃/L).

Foram realizados doze ensaios com os resíduos de fossa séptica para o microorganismo *Daphnia similis* e *Daphnia magna*. Os ensaios realizados com as amostras de fossa séptica apresentaram toxicidade para todas as amostras. A Tabela 20 mostra os resultados para o microrganismo *Daphnia similis* onde se obteve uma média de CE50 de 41,2% classificada como tóxica.

Tabela 20 – Teste de toxicidade com o organismo *Daphnia similis* com duração de 48h

Teste de toxicidade aguda <i>Daphnia similis</i> - 48h		
CE50(%)	Limite de Confiança 95%	Classificação quanto ao CE50 (BULICH)
34,0	29 - 39	Tóxica
32,0	25 - 39	Tóxica
58,0	51 - 65	Moderadamente Tóxica
57,0	52 - 62	Moderadamente Tóxica
49,0	40 - 56	Tóxica
37,0	29 - 44	Tóxica
26,0	15 - 36	Tóxica
52,0	45 - 59	Moderadamente Tóxica
21,0	13 - 38	Muito Tóxica
27,0	23 - 31	Tóxica
38,0	32 - 43	Tóxica
63,0	57 - 69	Moderadamente Tóxica
Média	41,0	
DP	14,0	Tóxica
CV	34%	

Fonte: a autora, 2012.

Os ensaios de toxicidade com o microorganismo *Daphnia magna* também apresentaram toxicidade em todos os testes, com média de CE50 igual á 54,0%, como mostra

a Tabela 21 sendo a *Daphnia similis* mais sensível aos resíduos de fossa séptica do que a *Daphnia magna*, pois quanto menor o valor do CE50 mais tóxica é a amostra.

Tabela 21 – Teste de toxicidade com o organismo *Daphnia magna* com duração de 48h

Teste de toxicidade aguda <i>Daphnia magna</i> - 48h		
CE50 (%)	Limite de Confiança 95%	Classificação quanto ao CE50 (BULICH)
45,0	39 - 51	Tóxica
58,0	51 - 65	Moderadamente tóxica
37,0	32 - 42	Tóxica
69,0	61 - 75	Moderadamente tóxica
55,0	49 - 60	Moderadamente tóxica
49,0	42 - 55	Tóxica
44,0	39 - 50	Tóxica
89,0	83 - 96	Levemente Tóxica
26,0	19 - 35	Tóxica
50,0	43 - 59	Tóxica
55,0	48 - 61	Moderadamente Tóxica
71,0	67 - 76	Moderadamente Tóxica
Média	54,0	Tóxica
DP	16,7	
CV	30%	

Fonte: a autora, 2012.

Foram realizados quatro ensaios de toxicidade com a bactéria *Vibrio fischeri* e todos eles também apresentaram toxicidade com média de CE50 igual á 52% como mostra a Tabela 22. Os testes foram realizados em 15 minutos e a variável pH permaneceu dentro do estabelecido (6,0 - 8,5).

Santos (2011) avaliou a toxicidade do sedimento de um estuário da Baía de Vitória com diferentes granulometrias através de ensaios ecotoxicológicos agudo com a bactéria marinha *Vibrio fischeri*. Foram selecionados 09 pontos diferentes de coleta de sedimento com diversos teores de areia e lama e os resultados obtidos com ensaios ecotoxicológicos indicaram correspondência entre toxicidade do sedimento e a proximidade com fontes de contaminação.

Martins (2009) ao estudar os efeitos causados aos ambientes aquáticos e sua biota da deposição atmosférica úmida, avaliou a toxicidade de amostras de águas de chuva de dois locais, utilizando diferentes organismos-teste como *Vibrio fischeri* e *Daphnia similis*. Entre

os cátions analisados neste estudo, o íon amônio (NH₄⁺) foi o predominante para as amostras coletadas, apresentando toxicidade em todas as amostras.

Tabela 22 – Teste de toxicidade com o organismo *Vibrio fischeri* com duração de 15 minutos.

Teste de toxicidade aguda com a bactéria <i>Vibrio Fischeri</i> (15 minutos)		
CE50% (15min)	Limite de Confiança 95%	Classificação quanto ao CE50 (BULICH)
37,8	15,7 – 87,9	Tóxica
53,0	10,85 - 106	Moderadamente Tóxica
65,0	23,0 – 77,5	Moderadamente Tóxica
52,3	12,8 – 88,0	Moderadamente Tóxica
Média	52,0	
DP	11,1	Tóxica
CV	21,4%	

Fonte: a autora, 2012.

Hernando *et al.* (2005), em testes de toxicidade com os organismos *Vibrio fischeri* e *Daphnia magna*, verificou que os organismos apresentavam respostas diferentes quando expostos ao mesmo efluente em um monitoramento de tratamento de águas residuárias, visto que a bactéria *V. fischeri* não apresentou toxicidade, enquanto que para a *Daphnia magna* apresentou toxicidade, indicando que os testes de toxicidade aguda podem ser consideradas como ferramentas analíticas de alta sensibilidade para detectar baixas concentrações comuns dos poluentes a níveis de concentrações ambientais

Sousa (2010) avaliou o uso de testes de ecotoxicidade com o organismo *Daphnia magna* no biomonitoramento de efluentes de ETEs industriais, hospitalares e de aterro sanitário, onde para o efluente do aterro sanitário apresentou toxicidade aguda com um CE₅₀ de 68% o que é classificado como moderadamente tóxico. Já em relação ao esgoto hospitalar, observou-se que o esgoto apresentou alta toxicidade e um CE₅₀ de 7,27%. O efluente sintético bruto apresentou CE₅₀ de 23,02% sendo classificado como efluente muito tóxico, demonstrando a grande importância dos testes ecotoxicológicos agudo e crônico no biomonitoramento de cargas poluidoras em corpos de água.

Uma vez no ambiente, os contaminantes podem estar sujeitos a uma combinação de processos que podem afetar o seu destino e comportamento. As substâncias potencialmente tóxicas podem ser degradadas por processos abióticos e bióticos que ocorrem na natureza. No

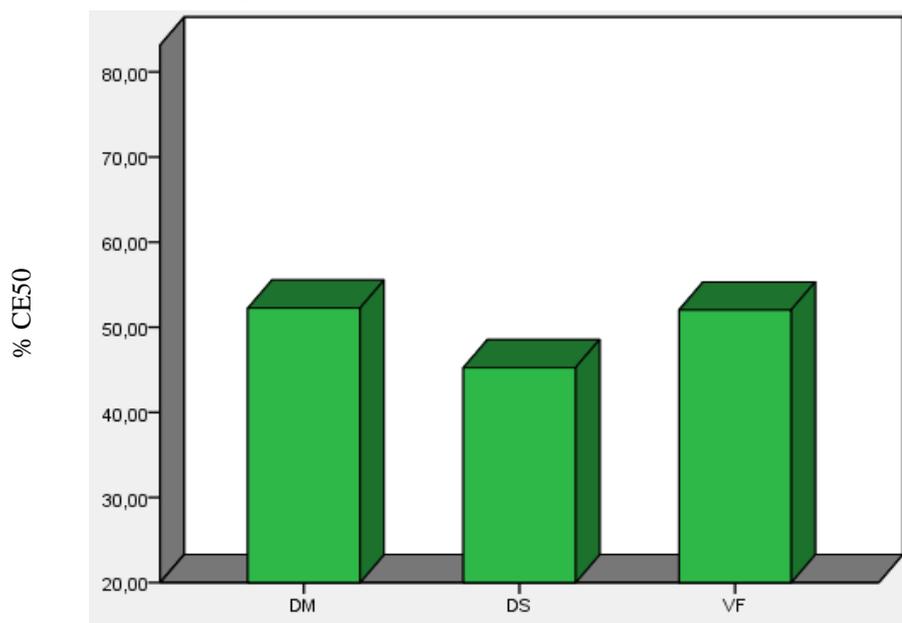
entanto, algumas delas resistem aos processos de degradação e por isso são capazes de persistirem no ambiente por longos períodos de tempo. O descarte contínuo no ambiente de uma substância persistente pode levar à sua acumulação em níveis ambientais suficientes para resultar em toxicidade (COSTA, 2008).

Vários poluentes no resíduo descarregado, tais como concentração total de substâncias orgânicas (DBO), nutrientes (amônia e fósforo) e um número de produtos químicos inorgânicos e orgânicos específicos podem causar toxicidade e afetar o ecossistema aquático (LOPUS, 2009). O nitrogênio na forma de amônia é diretamente tóxico aos peixes e constitui um problema para a reprodução desses organismos (VON SPERLING, 2005).

Em um estudo realizado no Japão por Sakai (2006), determinou que 13 amostras de água de chuva apresentaram toxicidade aguda para o organismo *Daphnia magna*, e mesmo após a adição de sais e ajuste de pH, observou-se o efeito agudo. Isso indica que apesar de o pH ter sido ajustado, as amostras continham compostos capazes de causar mortalidade em grande parte dos organismos expostos.

A Figura 33 mostra o gráfico de barras com as médias dos CE50 para cada microorganismo e podemos observar que a *Daphnia similis* se mostrou mais sensível aos resíduos de fossa séptica do que a *Daphnia magna* e ao *Vibrio fischeri*, ficando a relação de sensibilidade assim: DS>VF>DM.

Figura 33– Média de CE50 para *Daphnia magna*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* em amostras coletadas de caminhões limpa-fossa da RMF.



Fonte: a autora, 2012.

Ao observar os resultados obtidos com os ensaios ecotoxicológicos empregados neste estudo, é possível afirmar que todos os organismos demonstraram sensibilidade às amostras testadas e, portanto, a toxicidade foi confirmada.

O organismo *Daphnia similis* foi o que apresentou maior sensibilidade que os outros, e alguns estudos como de Beatrice (2004) relatam que esse organismo apresenta grande diferença de sensibilidade quando comparada com a *Daphnia magna*.

A toxicidade encontrada nas amostras de resíduo de caminhão limpa-fossa se dar tanto pela presença de metais pesados tóxicos como chumbo, mercúrio, zinco e níquel. De acordo com Von Sperling (2005) em peixes as doses fatais de chumbo variam de 0,1 a 0,4mg/L embora em condições experimentais alguns resistam até 10mg/L, acima desse valor é considerado como tóxico e acabam morrendo.

O níquel e o zinco também provocam a morte de peixes e outros organismos de água doce, pois esses íons em soluções diluídas podem precipitar obstruindo o movimento normal das brânquias, morrendo os peixes por asfixia.

Outro fator além dos metais pesados que pode ocasionar o efeito tóxico é a presença de grandes quantidades de amônia encontrada nas amostras de resíduos de caminhão limpa-fossa. Como o nitrogênio não sofre a nitrificação, devido às condições anaeróbias, a amônia não é oxidada a nitrito e posterior a nitrato, e observa-se que essas concentrações (nitrito e nitrato) nos resíduos de fossa e tanque séptico são desprezíveis.

A amônia apresenta-se tóxica praticamente na forma ionizada quando a faixa de pH está próxima a neutralidade (< 8), provocando a mortes de peixes e outros organismo aquáticos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que os resíduos esgotados de caminhões limpa-fossa da Região Metropolitana de Fortaleza apresentaram alta variabilidade, com exceção do pH, temperatura, condutividade e alcalinidade. Os outros parâmetros demonstraram uma distribuição não normal, devido às variações das concentrações, pois dependem de diversos fatores como tipo e tempo de esgotamento, sendo representados melhor pela mediana como medida de centro.

A relação DQO/DBO verificada no estudo foi de 5,61 devido a grandes variações encontradas nas concentrações de resíduos de caminhões limpa-fossa. Com relação a sólidos totais a fração volátil foi predominante devido a características de sistema anaeróbio e para o nitrogênio a fração amoniacal predominou sobre a orgânica, devido também ser um sistema anaeróbio. A relação SV/ST foi de 0,6 considerando o lodo de fossa ou tanques sépticos estáveis, pois de acordo com a CONAMA 375/2006 esses resíduos são estáveis até 0,7.

A concentração mediana de coliformes totais foi de $1,8 \times 10^7$ NMP, sendo necessária primeira a remoção desses patógenos para posteriormente utilizar esses resíduos na agricultura como uma forma de reciclar esses nutrientes.

As concentrações de metais pesados analisados foram bem abaixo dos valores exigidos pela CONAMA 375/2006 para a utilização do lodo de esgoto na agricultura, sendo

Todas as amostras de resíduos de caminhão limpa-fossa apresentaram toxicidade aguda para os organismos *Daphnia magna*, *Daphnia similis* e bactéria *Vibrio fischeri*. O CE50 das amostras para *Daphnia magna* variou entre 26% e 71%, com média de 54%. Para *Daphnia similis* o CE50 variou entre 21% e 63%, com média de 41% e para a bactéria *Vibrio fischeri* o CE50 variou entre 37,8% e 65%, com média de 52%, sendo que o organismo *Daphnia similis* foi o que apresentou maior sensibilidade aos resíduos de caminhão limpa fossa, pois foi o que obteve o menor CE50 nas amostras.

Os organismos-testes apresentaram sensibilidades diferentes quando expostos aos resíduos de caminhão limpa fossa. A ordem crescente de sensibilidade do menos ao mais sensível verificada foi: *D. magna* < *Vibrio fischeri* < *D. similis*. Assim, nessas condições de estudo o organismo que apresentou maior sensibilidade foi a *Daphnia similis*.

Deste modo, o uso de ensaios ecotoxicológicos como ferramenta para avaliar a toxicidade de amostras de resíduos sépticos se mostrou uma ferramenta importante para avaliar o uso desse lodo na agricultura, uma vez que estudos como este ainda são escassos. Além disso, as respostas obtidas por meio de ensaios ecotoxicológicos são muito valiosas.

O lodo de fossa séptica não poderia ser utilizado como fertilizante orgânico na agricultura sem antes passar por um tratamento adequado para a remoção dos patógenos e da toxicidade.

7 RECOMENDAÇÕES

- Como sugestões para futuras pesquisas poderiam ser realizados um número maior de análises, para confirmar os resultados de caracterização físico-química e microbiológica, para se obter uma melhor diversidade dos resultados.
- As amostragens das coletas dos caminhões limpa fossa deverão ser realizadas de forma composta, retirando varias amostras de diferentes caminhões para se obter uma amostra mais representativa.
- Utilização de organismos de nível trófico diferente das *Daphnias* e da bactéria *Vibrio fischeri* como, por exemplo, organismo produtor (algas), ou peixes para se obter uma avaliação melhor da toxicidade desses resíduos.
- Realização de análises microbiológicas como ovos viáveis de helmintos e *Salmonella*, pois são parâmetros exigidos pela CONAMA 375/2006.
- Realizar mais ensaios de toxicidade aguda e também o avaliar os efeitos crônicos com amostras de caminhão limpa-fossa para que se possa realizar um estudo mais complexo da toxicidade.
- Realizar análises de carbono total, para verificar a relação C/N no composto produzido através do lodo de fossa séptica.
- Verificar a viabilidade de alternativas para a destinação final do lodo de esgoto como incineração, fabricação de tijolos, produção de cimento e disposição em aterros sanitários.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBONDANZI, F.; CACHADA, A.; CAMPISI, T.; GUERRA, R.; RACCAGNI, M.; IACONDINI, A. Optimization of a microbial bioassay for contaminated soil monitoring: bacterial inoculum standardization and comparison with Microtox assay. **Chemosphere**, 53:889–97, 2003.

ANDRADE NETO, C.O.; ALEM SOBRINHO, P.; SOUZA MELO, H.N.; AISSE, M.M. **Decanto-digestores: Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo**. Rio de Janeiro: ABES, 1999.

ANDREOLI, C. V (Org.). **Lodo de esgotos: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, v.6, 2001.

APHA. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21^a ed. Washington: American Public Health Association, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 7229:2006** Projeto, construção e instalação de sistemas de tanques sépticos. Rio de Janeiro, 1982. 37p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 12713:2009**. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* – 23 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 15411-3:2006**. Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri* (Ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas. Rio de Janeiro.15p

BARBOSA, S. A.; NOLASCO, M.A. On site treatment: evaluation of a submerged aerated biofilter treating effluent from a septic tank. In: COFERENCIA LATINO-AMERICANA DE SANEAMENTO, 2007, Cali- Colômbia.

BARRIOS, J.A; 2007. Latin America and the Caribbean. In: Spinosa, L. (Ed.), **Wastewater Sludge: A Global Overview of the Current Status and Future Prospects**. IWA Publishing, London, p.19–22

BATALHA, B. H. L.(1989). **Series Manuais. Fossa Séptica**. 2ed. São Paulo: CETESB, 20p.

BEATRICI, A.C.; ARENZON, A.; COIMBRA, N.J.; RAYA-RODRIGUEZ, M.T. Fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* e *Daphnia magna* submetidas a diferentes cultivos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, 123-126, 2006.

BELLI FILHO, P; OLIVEIRA PINTO, R; KOERICH, K; MATIAS, G; SOARES, H. **Lodos de tanques sépticos. Caracterização e tratamento anaeróbio em um digestor piloto**. AIDIS. In. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, v. 29, San Juan, pag. 22-27, Ago. 2004.

BIRGE, W.J.; BLACK, J.A; WESTERMAN, A.C. Short termfish and amphibian tests for determining the effects of toxicant stress on early life stages and estimating chronic values for single compounds and complex effluents. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 49, p 807-821, 1985

BORGES, N. B. **Caracterização e pré-tratamento de lodo de fossas e de tanques sépticos**. 2009. 152 f. Tese (Mestrado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

BORRELY, S.I. **Redução da toxicidade aguda de efluentes industriais e domésticos tratados por irradiação por feixes de elétrons avaliada com as espécies *V. fischeri*, *D. similis* e *P. reticulata***. Tese (Doutorado) — Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2001.

BRASIL - Ministério do Meio Ambiente - MMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA - **Resolução nº 375– Define critérios procedimentos para o uso agrícola de lodos de esgotos gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e da outras providencias**. De 29 de agosto de 2006. Diário Oficial da União, Brasília, 29 de agosto de 2006.

BRASIL - Ministério do Meio Ambiente - MMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA - **Resolução nº 430/2011 – Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA**. De 13 de maio de 2011. Diário Oficial da União, Brasília, 16 de maio de 2011a, 8 p.

BRENTANO, D.M. **Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário**. 2006. 130p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BULICH, A.A. A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic. **Process Biochemistry**. p. 45-47.

CAETANO, I; ANTUNES, M. A linguagem das bactérias. **Revista Ciência Hoje**, São Paulo, p16, maio 2003.

CETESB. **Métodos de Avaliação da Toxicidade de Poluentes a Organismos Aquáticos**. São Paulo, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1992.

CHERNICHARO, C. A. DE LEMOS (coordenador), 2001, **Pós Tratamento de efluentes de reatores anaeróbios**, Projeto PROSAB, Belo Horizonte, FINEP.

COELHO, R.S. **Avaliação da toxicidade de fluidos de usinagem através da ecotoxicologia aquática**. 2006, 156f. Tese (Doutorado). Escola de Engenharia de São Carlos, 2006.

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

DOMINGUES, D.F.; BERTOLETTI, E. **Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos**. In: Zagatto, P.A; Bertoletti, E. *Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações*. Ed. Rima. São Carlos, 2006. p. 153 – 184. 2006.

FUNDAÇÃO DO MEIO AMBIENTE DE SANTA CATARINA - FATMA. Portaria nº 017/02 de 18 de abril de 2002. **Limites Máximos de Toxicidade Aguda para Efluentes de Diferentes Origens**.

FUNASA - FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE. Manual de Saneamento – Orientações Técnicas. 3ª ed. Revisão. Brasília. 2006

GUJER, W; ZEHNDER, A. J. B. *Conversion processes in anaerobic digestion*, **Water Science Technology**, v. 65, p. 2030, 1983.

HAMADA, N. **Ensaio de toxicidade empregados na avaliação de efeitos no sistema de tratamento de esgoto e efluentes, ETE Suzano, e seu entorno, utilizando organismos aquáticos**. 2008, 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares – Autarquia associada á Universidade de São Paulo, 2008.

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

HEISTAD *et al.*, A high-performance compact filter system treating domestic wastewater, **Ecological Engineering** (2006), doi:10.1016/j.ecoleng.2006.06.011.

HERNANDO, M.D; FERNANDEZ-ALBA, A.R; TAULER, R; BARCELO, D. Toxicity assays applied to wastewater treatment. **Talanta** 65: 358-366, 2005.

HERNANDO, M.D; MALATO, O; FARRE, M; FERNANDEZ-ALBA, A.R; BARCELO, D. Application of ring study: Water toxicity determinations by bioluminescence assay with *Vibrio fischeri*. **Talanta** vol. 65, n.2, p 370-376, 2006.

HIGA, M.C. **Aplicação de ensaios de toxicidade na avaliação da eficiência da radiação ionizante e da absorção em zeólitas para o tratamento de efluentes coloridos**. 2008, 92f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares – Autarquia associada á Universidade de São Paulo, 2008.

IAP – INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ. Portaria nº 019, de 10 de fevereiro de 2006. Aprova e determina o cumprimento da Instrução Normativa DIRAM nº002/2006, que estabelece o Sistema de Automonitoramento de Atividades Poluidoras no Paraná. **Diário Oficial do Estado Paraná**, Curitiba, 16 fev. 2006, p. 22.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional por Amostras de Domicílios 2009. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento/pnad2009/pnad_sin_tese_2009.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2011.

ISO 6341 - International Organization for Standardization, 1996, Water Quality-Determination of the inhibition of mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera -Crustacea).

JONSSON, C.M.; MAIA, A.H.N. **Avaliação da toxicidade do lodo de esgoto de duas estações de tratamento para o invertebrado aquático *Daphnia similis***. Pesticidas: r. ecotoxicologia e meio ambiente, Curitiba, v. 17, jan./dez. 2007.

JORDÃO, E. P., PESSOA, C. A (2005) **Tratamento de Esgotos Domésticos**. 4ed, Rio de Janeiro. SRGRAC, 932P.

LAITANO, K. S; MATIAS, W.G. Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. 2006. **Journal oh the Brazilian Society of Ecotoxicology**. v.1, n.1, 2006.

LEITE, B.Z.; INGUNZA, M.P.D.; ANDREOLI, C.V. Lodo de decanto-digestores. In: ANDREOLI, C.V. Alternativas de uso de resíduos do saneamento. Rio de Janeiro: ABES 2006.

LOPUS S.E., BACHAND P.A.M., HEYVAERT A.C., WERNER I., THE S.J., REUTER J.E. Potential toxicity concerns from chemical coagulation treatment of stormwater in the Tahoe basin, California, USA. **Ecotoxicology Environmental Safety**. v.72, p. 1933–1941, 2009.

KNIE, J. L. W. ; LOPES, E. W. B. **Testes toxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004.

MACHADO JÚNIOR, A. R.; LAPOLLI, F. R.; RÉCIO, M. A. L. Avaliação da presença de elementos-traço em lodo coletados por caminhões limpa fossa na cidade de Tubarão-SC. In: **CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA**, 2008, Santiago – Chile.

MAGALHÃES, D.P; FERRÃO-FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. 2008. **Oecologia Brasiliensis**. v.12, p. 355-381, 2008.

MALTA, T. S. **Aplicação de lodos de ETEs na agricultura: Estudo de caso Município de Rio das Ostras – RJ**. 2001. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz.

MARA, D.D. Natural sewage treatment in the UK: selection guidelines. **Water Environmental**. v. 18, p. 230, 2004.

MARTINS, R.S.L. **Avaliação da toxicidade de águas de chuva a organismos aquáticos** 84f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) – Instituto de pesquisas energéticas e nucleares – Autarquia associada á Universidade de São Paulo, 2009.

MEILE, C; PORUBSKU, W.P; WALKER, R.L; PAYNE, K. **Natural attenuation of nitrogen loading from septic effluents: Spatial and environmental controls**. Water Research. v. 44, p. 399 – 408, 2010.

MELO, W.J.; MARQUES, M.O. **Potencial do lodo de esgoto como fonte de nutrientes para as plantas.** In: BETTIOL, W. CAMARGO, O.A. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. P. 109-141.

MENESES, C.G.R; **Caracterização físico-química e biológica dos resíduos de sistemas tipo tanque séptico-sumidouro da cidade de Natal.** Natal, 2001. Dissertação de Mestrado. UFRN

METCALF e EDDY, INC. Wastewater Engineering – Treatment, Disposal and Reuse. 3. Ed. New York: Mc Graw – Hill, 1991. 1334p.

MONTEIRO, S. P. P. B. **Desenvolvimento e aplicação de teste de toxicidade aguda utilizando como organismo teste *Daphnia magna*.** 2009. 81f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, 2009.

NEWMAN, M.C.; UNGER, M. A. **Fundamentals of Ecotoxicology.** Second Edition. Boca Raton, USA, Lewis Publishers, 2002.

NIETO, R., 2000, Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais - ferramenta para ações de controle da poluição das águas. **Anais 17º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental.**

PAIVA, A.B. **Avaliação de risco ambiental utilizando parâmetros físico-químicos e biológicos no rio Canoas/SC.2004.**105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Universidade de Santa Catarina. UFSC, 2004.

PARANÁ. Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos. Conselho Estadual do Meio Ambiente. CEMA. Resolução 081/2010. Dispõe sobre critérios e padrões de ecotoxicidade para o Controle de Efluentes Líquidos lançados em águas superficiais no Estado do Paraná. **Diário Oficial do Estado do Paraná,** Curitiba, 19 out. 2010.

PARVEZ, S., VENKATARAMAN, C., MUKHERJI, S. A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (*Vibrio fischeri*) for acute toxicity prediction of chemicals. **Environment International,** n.32, p. 265-268, 2006.

PEREIRA, C. D. S.; ROTUNDO, M. M.; FURQUIM, L. G.; IANNUZZI, A.; FERRAZ, N. L.; SANTOS, A. R. **Avaliação da toxicidade de águas superficiais e de fundo de uma área próxima à desembocadura do estuário de Santos.** In: Anais do IV Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais e Saúde. 2004, Santos, SP.

PERET, A.M.; **Quantificação do pesticida fipronil em uma lagoa marginal do Rio Moji-Guaçu e a cinética de sua degradação por microorganismos aquáticos.** Dissertação (Doutorado em Ciências: área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais), UFScar, São Paulo, Brasil, 2009.

RAMALDES, D.H.C.; FURIERI, E.C.; SILVA, C.M.D. da; GONÇALVES, R.F. **Resultados de testes de desidratação de lodos de reatores UASB através de processos naturais e mecânicos.** In: IX SIMPÓSIO LUSO BRASILEIRO. 2000. Anais Porto Seguro / Bahia, 2000.

RAMIREZ, D.B. **Uso de efluente de lagoa anaeróbia em cultura de eucaliptos: Avaliação da toxicidade da água percolada e da produtividade da cultura.** 2009. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

RATIS, A. N. F. A. **Caracterização dos resíduos esgotados de sistemas de tratamento individual de esgotos domésticos de Natal.** 2009. 118f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária) – Universidade do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

ROCHA, C., SANT'ANNA, F. S. P. **Regulamentação para despejos de caminhão limpa-fossa na ETE-Javivatuba, Joinville, SC.** In: Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. João pessoa/ ABES, 2005.

RUBINGER, C. F. **Seleção de métodos biológicos para avaliação toxicológica de efluentes industriais.** 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais. 2009.

SANTOS, C. A. **Análise ecotoxicológica de sedimento do estuário da baía de Vitória (ES) com diferentes granulometrias: Uma contribuição á Conama 344/04.** 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). Universidade Federal do Espírito Santos, Vitória, 2011.

SANTOS, Y. T. C. **Caracterização do conteúdo de fossas e tanque sépticos na cidade de Natal.** 204f. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária). Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2010.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Resolução SMA n.3, de 22 de fevereiro de 2000. Dispões sobre as relações que fixam a toxicidade permissível no controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo. **Diário Oficial [do] Estado de São Paulo**, Poder Executivo, São Paulo, v.110, n.39, 25 de fevereiro de 2000. Seção 1, p.24.

SAKAI, M. Acute toxic tests of rainwater samples using *Daphnia magna*. **Ecotoxicology Environmental Safety**. n. 64, p.215-220, 2006.

SAYLOR, G.L; CHEN, L; KUPFERLE, J. Using Toxicity testing to evaluate electrochemical reactor operations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 494–500, 2012.

SCHEPPER, W; DRIES, J; GEUENS, L; Wastewater treatment plant modeling supported toxicity identification and evaluation of a tank truck cleaning effluent. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 73, p 702-709, 2010.

SILVA, A. C. **Tratamento do percolado de aterro sanitário e avaliação da toxicidade do efluente bruto e tratado.** 2002. 126p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). UFRJ, Rio de Janeiro. 2002

SNIS – Sistema Nacional de Informação sobre Saneamento. Disponível em: <<http://www.snis.gov.br>>. Acesso em: 14 nov. 2011.

SOTERO-SANTOS, R.B. Evaluation of water treatment sludges toxicity using the Daphnia bioassay. **Water Research**. v. 39, n. 16 p 3909–3917, 2005.

SOUSA, M.R. **Utilização de ensaios de ecotoxicidade no biomonitoramento de efluentes de ETEs industriais, hospitalares e de aterro sanitário, localizadas na região metropolitana de Fortaleza**. 2010. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.

TACHINI, M; BELLI FILHO, P; PINHEIRO, A. Avaliação de tratamento integrado de esgotos sanitários e de lodo de tanques sépticos em um Ralf: um estudo de caso. **Sanare Revista Técnica da Sanepar**, v.24, p.70-78, jan./jun. 2006.

TRIOLA, M. F. **Introdução à Estatística**. 10ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 726 p.

USEPA - United States Environmental Protection Agency, 1992. Guidelines for Water Reuse. Washington: Office of Wastewater Enforcement and Compliance, **Environmental Protection Agency**, 2002.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G., 1994, **Tratamento anaeróbio de esgoto. Um manual para regiões de clima quente**, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.

VASSEUR, P; FERARD, J.F; VIAL, J; LARBAIGT, G. Comparaison des Tests Microtox et Daphnie pour l'Evaluation de la Toxicité Aigue d'Efluentes Industriels. **Environmental Pollution**, v.34, p. 225-235, 1984.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Vol. 1. **Introdução á qualidade das águas e o tratamento de esgotos**. 3. Ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFGM, 2005. v. 1. 452p.

ZAGATTO, P.A; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações**. Ed. Rima. São Carlos, 2008, p. 135- 147, 2008.

WERNER, L.I; BURATINI, S. **Sensibilidade de Daphnia similis: efeitos da dieta e da água de cultivo**. Resumos VII ECOTOX, 2002, Vitoria, ES.

WITHERS, P.J.A; JARVIE, H.P; STOATE, C. Quantifying the impact of septic tank systems on eutrophication risk in rural headwaters. **Environment International**. v. 37, p. 644–653

ANEXO A – Água de cultivo e de diluição para *Daphnia magna*

ABNT NBR 12713:2009

Soluções para preparo da água de cultivo e de diluição

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	CaCl ₂ . 2H ₂ O	73500	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
2	MgSO ₄ . 7H ₂ O	123300	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
3	KCl	5800	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
4	NaHCO ₃	64800	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
5	MnCl ₂ . 4H ₂ O	7210	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
	LiCl	6120	
	RbCl	1420	
	SrCl. H ₂ O	3040	
	CuCl. 2H ₂ O ¹⁾	335	
	ZnCl ₂ ¹⁾	260	
	CoCl ₂ . 6H ₂ O ¹⁾	200	
6	NaNO ₃	548	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
	H ₃ BO ₃	5719	
	NaBr	32	
	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	126	
	NH ₄ VO ₃	1,15	
	KI	6,5	
	Na ₂ SeO ₃	4,38	
7	Na ₂ SiO ₃	21465	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada, deixando em agitação até o clareamento da solução.

8	Na ₂ EDTA. 7H ₂ O ²⁾	500	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada. Preparar as soluções separadamente, cada uma em 500 mL de água destilada. Misturar as duas soluções e autoclavar imediatamente a 121 C por 15 min.
	FeSO ₄ . 7H ₂ O	199,1	
9	KH ₂ PO ₄	286	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada
	K ₂ HPO ₄	368	
10	Hidrocloreto de tiamina	750	Dissolver e diluir a 1000 mL com água destilada. Congelar em volume adequado para uso.
	Cianocobalamina (vitamina B12)	10	
	D (+) Biotina	7,5	
¹⁾ Pesar em vidro ou filme plástico. Não usar papel alumínio. ²⁾ O EDTA é fotodegradável.			

Volume das soluções para o preparo de 1L da água de cultivo

Solução	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume (mL)	3,2	0,8	0,8	0,8	0,1	0,5	0,2	5,0	0,5	0,1*
*Descongelada e adicionada imediatamente										

Volume das soluções para o preparo de 1L da água de diluição

Solução	1	2	3	4
Volume (mL)	3,2	0,8	0,8	0,8

ANEXO B – Preparo do meio L.C Oligo.

NBR 12648:2004

Soluções para preparo do meio LC Oligo

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	Ca(NO ₃). 4H ₂ O	4000	Dissolver e completar para 100 mL com água destilada
2	KNO ₃	10000	Dissolver e completar para 100 mL com água destilada
3	MgSO ₄ . 7H ₂ O	3000	Dissolver e completar para 100 mL com água destilada
4	K ₂ HPO ₄	4000	Dissolver e completar para 100 mL com água destilada
5	CuSO ₄ . 5H ₂ O	30	Dissolver e completar para 1000 mL com água destilada
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	60	
	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	60	
	CoCl ₂ . 6H ₂ O	60	
	Mn(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	60	
	H ₃ C ₆ H ₈ O ₇	60	
	H ₃ BO ₃	60	
6	C ₆ H ₅ FeO ₇ . 5H ₂ O	1625	Dissolver e completar para 1000 mL com água destilada
	FeSO ₄ . 7H ₂ O	625	
	FeCl ₃ . 6H ₂ O	625	
7	NaHCO ₃	15000	Dissolver e completar para 1000 mL com água destilada

ANEXO C – Água cultivo para a *Daphnia similis*

NBR 12713:2009

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	CaSO ₄ .2H ₂ O	1500	Dissolver e completar para 1000 mL com água destilada
2	KCl	200	Dissolver e completar para 1000 mL com água destilada
	NaHCO ₃	4800	
	MgSO ₄ .7H ₂ O	6100	