

Avaliação ecotoxicológica de efluente sanitário sintético em organismos bioindicadores.

Ecotoxicological evaluation of synthetic sanitary effluent in bioindicator organisms.

RESUMO

Paloma Pucholobek Panicio
palomapanicio@alunos.utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Wanessa Algarte Ramsdorf
wanessa6@yahoo.com.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Marcus Vinícius de Liz
marcusliz@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

Fernando Rodrigues da Silva
fernando.rodrigues002@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.

A produção de resíduos, sejam eles domésticos ou industriais, é inevitável. Cabe às autoridades gerenciadoras a responsabilidade de analisar o quão nocivo esses efluentes podem ser ao ecossistema que receberá o seu descarte. O presente trabalho avaliou a ecotoxicidade aguda de um efluente sanitário sintético usando como organismos-teste *Daphnia magna* e *Lactuca sativa* (alface). Os bioensaios com *D.magna* foram realizados segundo a NBR 12713/2016. Os ensaios com *Lactuca sativa* foram realizados segundo Young et al. (2012). Nossos ensaios evidenciaram o caráter tóxico para *D. magna*. No 1º ensaio o fator de toxicidade foi 4, já o 2º e 3º ensaio apresentou fator de toxicidade 2. O excesso de matéria orgânica, causando a eutrofização do meio, pode ter sido responsável pela toxicidade da amostra, além de um possível mascaramento dos componentes do meio ocasionados pelos compostos do efluente. Nas diluições que não houve imobilidade dos organismos, foram identificados danos morfológicos. Para as sementes não houve caráter tóxico, contudo, observou-se um mecanismo de defesa nas radículas e uma diminuição de 0,10 cm de crescimento médio delas. O presente trabalho apresenta resultados preliminares. Contudo, já indicam que o efluente sanitário sintético causa desequilíbrios ambientais. Reafirma tamanha importância do tratamento prévio antes do seu descarte.

PALAVRAS-CHAVE: Efluente sanitário sintético. *Daphnia magna*. *Lactuca sativa*. Ecotoxicologia. Bioensaios.

ABSTRACT

Waste generation, whether domestic or industrial, is inevitable. Management authorities have a responsibility to analyze how harmful these effluents can be to the ecosystem that will receive their disposal. The present work evaluated the acute ecotoxicity of a synthetic domestic effluent using as test organisms *Daphnia magna* and *Lactuca sativa* (lettuce). The bioassays with *D.magna* were performed according to NBR 12713/2016. *Lactuca sativa* assays were performed according to Young et al. (2012). Our tests showed the toxic character for *D. magna*. In the 1st test, the toxicity factor was 4, while the 2nd and 3rd test presented toxicity factor 2. The excess of organic matter, causing the eutrophication of the medium, may have been responsible for the toxicity of the sample, as well as a possible masking of the toxins. environmental components caused by effluent compounds. In the dilutions that there was no immobility of the organisms, morphological damages were identified. For the seeds there was no toxic character, however, there was a defense mechanism in the roots and a decrease of 0.10 cm in their average growth. This paper presents preliminary results. However, they already indicate

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



that synthetic wastewater causes environmental imbalances. It reaffirms the importance of prior treatment prior to disposal.

KEYWORDS: Synthetic sanitary effluent. *Daphnia magna*. *Lactuca sativa*. Ecotoxicology. Bioassays.

INTRODUÇÃO

De acordo com PIMENTA (et al., 2002)

O lançamento de efluentes *in natura* nos recursos hídricos resulta, além de vários problemas socioambientais, em impactos significativos sobre a vida aquática e o meio ambiente como um todo. Por exemplo, a matéria orgânica presente nos dejetos ao entrar em um sistema aquático, leva a uma grande proliferação de bactérias aeróbicas provocando o consumo de oxigênio dissolvido que pode reduzir a valores muitos baixos, ou mesmo extinguir, gerando impactos a vida aquática aeróbica.

“Hoje é reconhecido que somente os ensaios ecotoxicológicos possuem a peculiaridade de caracterizar os efluentes líquidos de forma mais abrangente, englobando todos os seus constituintes químicos” (BERTOLETTI, 2013).

Considerando os princípios da ecotoxicologia, pode-se avaliar a toxicidade de uma amostra por meio de bioensaios, nos quais são utilizados organismos-teste que apresentem sensibilidade suficiente em relação aos agentes químicos, gerando assim resultados confiáveis e representativos. Para o presente estudo, testes agudos foram realizados com *Daphnia magna* e ensaios de fitotoxicidade com sementes de *Lactuca sativa* (alface).

Daphnia magna, popularmente conhecida como pulga d'água, é um microcrustáceo de água doce. Pode ser facilmente cultivada em laboratório e é um excelente organismo bioindicador, por possui um ciclo de vida curto e reprodução assexuada gerando neonatos geneticamente idênticos a matriz.

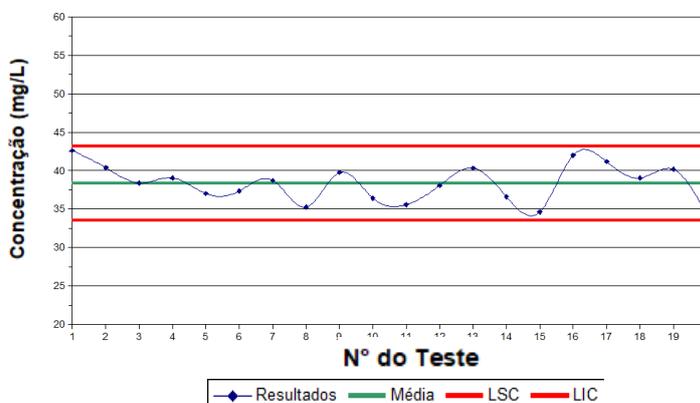
Lactuca sativa uma espécie de alface, é também um excelente organismo para bioensaios de toxicidade, pois possui uma rápida germinação e reidratação. Pode estar muito suscetível a contaminações durante seu cultivo por meio de águas já contaminadas.

MATERIAIS E MÉTODOS

- a) **Efluente sanitário sintético:** Composto exclusivamente de matéria orgânica e inorgânica, como amido solúvel, bicarbonato de sódio, cloreto de cálcio anidro, cloreto de magnésio, de sódio e de amônio, extrato de carne, farinha de trigo, sacarose e fosfato de potássio monohidratado;
- b) **Teste de sensibilidade:** Quando se analisa os efeitos deletérios causados por um agente químico em algum organismo bioindicador, se faz necessário a realização de testes de sensibilidade com esses organismos. Somente após essa análise é possível ter certeza de que não está havendo uma superestimação ou subestimação dos efeitos da amostra em análise. Enquanto o presente bioensaio estava sendo realizado, os testes de sensibilidade aconteciam paralelamente de forma semanal. A substância de referência utilizada era o

sulfato de zinco ($ZnSO_4$). Foi montado também um controle negativo, sendo este composto por água de diluição. Assim que realizados 20 ensaios foi possível montar a Carta-control de lotes, que pode ser analisada na figura 1;

Figura 1 – Carta controle



Fonte: Lab. ecotoxicologia UTFPR 2019

c) **Teste agudo com *Daphnia magna*:** A realização do teste agudo seguiu a norma NBR 12713 (2016). Foram utilizados neonatos com 2-26h de vida. A execução se deu em béqueres de 50mL e triplicatas, contendo 10 organismos-teste em 20mL de cada solução. A amostra foi diluída 6 vezes, sendo 3; 4,17; 6,25; 12,5; 25; 50; 100%, em água de osmose. Além de um controle negativo composto por 20mL de água de diluição. Após isso os béqueres foram tampados com papel-alumínio e colocados na B.O.D de testes sem iluminação e sem alimentação, com temperatura 18-22°C. Após 48h do início do teste é feita a leitura, onde se analisa a quantidade de organismos-testes imóveis em cada fator de diluição (FD). O resultado do teste é expresso por Fator de Toxicidade (FT), que corresponde ao maior fator de diluição da amostra na qual se observou imobilidade no organismo-teste igual ou inferior a 10%. Para que o teste seja considerado válido o total dos organismos imóveis no controle negativo deve ser igual ou inferior a 10%;

d) **Fitotoxicidade com *Lactuca sativa*:** O teste foi realizado de acordo com Young et al. (2012) e Garcia (2009). A fim de avaliar a sensibilidade das sementes e confiabilidade dos resultados obtidos, foi montado junto ao teste um controle negativo, composto de água de osmose e um controle positivo com solução de Glifosato 3%. A montagem do teste ocorreu em placas de Petri limpas e secas, em triplicatas e forradas com papel-filtro. Despejou-se sobre o papel 4mL do efluente (sem diluição) e para os controles, água de osmose e glifosato. Em seguida, acomodou-se 15 sementes em cada placa. Por fim, as placas foram tampadas, envolvidas com papel filme, e encubadas em estufas do tipo B.O.D com ausência de luz, a temperatura constante de 18^o-22^oC por 120h. O parâmetro que implica a validação do teste indica que o bioensaio deve ter a taxa de germinação para o controle maior que 90%. Os resultados foram observados e analisados em função da germinação relativa (GR) (equação 1), o índice do crescimento relativo (IAR) (equação 2) e o índice de germinação (IG) (equação 3). Viana, Martins, Souza e Stroparo (2017) expressam os efeitos em cada amostram por meio dos valores de IAR da seguinte maneira:

Inibição do crescimento da radícula $0 < IAR > 0,8$;

Sem efeito negativo $0,8 \leq IAR \leq 1,2$;

Estimulação do crescimento da radícula $IAR > 1,2$.

$$GR = \frac{SGA}{SGC} \quad (1)$$

$$IAR = \frac{MARA}{MARC} \quad (2)$$

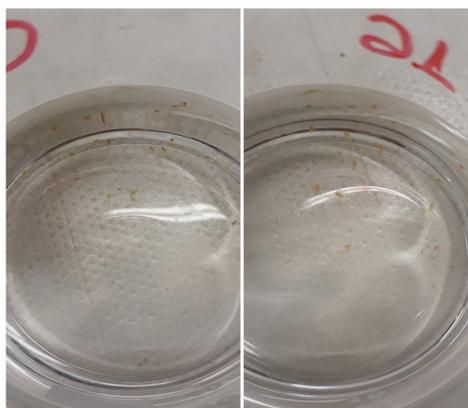
$$IG = GR \times IAR \times 100 \quad (3)$$

Onde SGA corresponde ao nº de sementes germinadas na amostra, SGC nº de sementes germinadas no controle negativo, MARA é a média do alongamento da raiz na amostra e MARC é a média do alongamento da raiz no controle negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio agudo com *Daphnia magna*: Após o período de exposição, foi observado o número de organismos imóveis para cada réplica. Após isso, foi calculada a média de imobilidade para cada diluição considerando as três réplicas. Analisando a média de organismos imóveis para cada diluição, foi possível determinar o Fator de toxicidade (FT). No 1º ensaio realizado, FT foi 4 (25% diluído), já o 2º e 3º ensaio apresentou FT 2 (50% diluído). Nas diluições que não houve imobilidade dos organismos, observou-se modificações fisiológicas consideráveis, como a perda da coloração corpórea e um crescimento fora do esperado para 48h. Essas alterações fisiológicas foram observadas em todas as diluições comparando-as ao controle negativo.

Figura 2-Comparação de *D. magna* do controle negativo (à esquerda) com *D. magna* do FD 16 (à direita)



Fonte: Autoria própria

Fitotoxicidade do efluente em *Lactuca sativa*: Logo após a exposição de 120h, foi medida a radícula de cada semente e esses valores analisados estatisticamente. As radículas que apresentaram crescimento inferior a 0,3 cm foram consideradas não germinadas. Como dado de confiabilidade do teste temos 100% de germinação nos controles negativos e a homogeneidade da variância validada pelo teste de Tukey com nível de significância para todos os ensaios de 5% ($p < 0,05$). Observamos uma média de crescimento de 1,54 cm no controle negativo, para as sementes expostas ao efluente, a média foi de 1,44 cm.

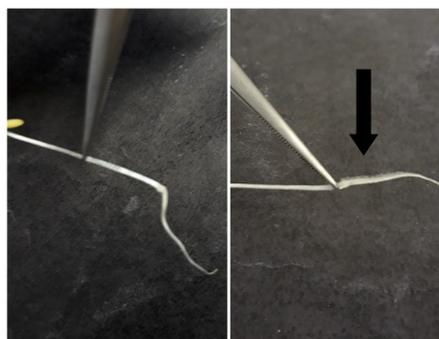
Identificou-se também um índice de germinação de 95,6% e um índice de crescimento relativo de 0,935. Analisando a tabela 2, verificamos que as sementes não sofreram efeito negativo, porém, apresentaram modificações morfológicas que podem ser observadas nas figuras 3 e 4. Nota-se que as folhas apresentam necrose quando germinadas em contato com o efluente. Também foram observados filamentos bem finos desenvolvidos nas raízes, como um mecanismo de defesa.

Figura 3 - Comparação de sementes em controle negativo (à esquerda) com sementes expostas (à direita)



Fonte: autoria própria

Figura 4 - Mecanismo desenvolvido pela semente exposta ao efluente sintético (à direita)



Fonte: Autoria própria

CONCLUSÃO

O presente trabalho apresenta resultados preliminares quanto à análise do efluente sanitário sintético. Contudo, verificamos seu potencial para desequilibrar o ecossistema mesmo sem qualquer tipo de fortificação.

Os maiores índices de toxicidade identificados pelo bioindicador *D. magna*, é para o efluente quando descartado *in natura*. O excesso de matéria orgânica, pode ter sido responsável pela toxicidade da amostra, além de um possível mascaramento dos componentes do meio ocasionados pelos compostos do efluente. As sementes não apresentaram dano tóxico significativo, contudo ainda foi possível observar uma diminuição de 0,10cm no seu crescimento em relação ao controle negativo, e o desenvolvimento de um mecanismo de defesa contra a amostra ao qual foram expostas.

Quanto mais eficaz for o tratamento gerenciado pelas estações de tratamento, menores serão os danos ambientais. Esses tratamentos podem envolver desde sistemas biológicos aeróbicos e anaeróbicos, até processos oxidativos avançados ou a ozonização. A escolha do tratamento deve ser pensado naquele que trará melhor qualidade ao efluente tratado.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – toxicidade aguda – método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/joaquimgoncalvesmachadoneto/nbr12713-2016-toxic-aguda-daphnia.pdf> Acesso em: 05 jun 2019.

BERTOLETTI, Eduardo. CONTROLE ECOTOXICOLÓGICO DE EFLUENTES LÍQUIDOS NO ESTADO DE SÃO PAULO. 2013. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2015/06/manual-controle-ecotoxicologico-2013.pdf> Acesso em: 05 Jun 2019.

GARCIA, Juliana C. Evolutive Follow-up of the Photocatalytic Degradation of Real Textile Effluents in TiO₂ and TiO₂ H₂O₂ Systems and their Toxic Effects on *Lactuca sativa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v20 no.9, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532009000900005 Acesso em: 05 jun 2019.

PIMENTA, Handson Cláudio Dias. ROCHA JÚNIOR, Josenberg Martins da; TORRES, Felipe Ruzo Macêdo; RODRIGUES, Bernardo Silva. O ESGOTO: A IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO E AS OPÇÕES TECNOLÓGICAS. 2002. Disponível em http://www.abepro.org.br/biblioteca/ENEGEP2002_TR104_0458.pdf Acesso em: 05 jun 2019.

VIANA, Lucas Oliveira; MARTINS, Kelly Geronazzo; SOUZA, Kely Viviane de; STROPARO, Erivelton Cesar. Fitotoxicidade de efluente da indústria cervejeira em sementes de *Lactuca sativa* L. **Revista Internacional de Ciências**, v. 07, n. 02, p. 265–275, 2017. Disponível em: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/ric/article/view/30072/22934> Acesso em: 05 jun 2019.

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. Toxicity of the effluent from a anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 76, p. 182-186, 2012.