

**Débora Monteiro Brentano**

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DO TESTE DE  
TOXICIDADE CRÔNICA COM *Daphnia magna*: AVALIAÇÃO  
DE EFLUENTES TRATADOS DE UM ATERRO SANITÁRIO**

**Florianópolis/SC**

**2006**

Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC  
Centro Tecnológico - CTC  
Departamento de Engenharia Sanitária Ambiental  
Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental - PPGEA

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DO TESTE DE  
TOXICIDADE CRÔNICA COM *Daphnia magna*: AVALIAÇÃO  
DE EFLUENTES TRATADOS DE UM ATERRO SANITÁRIO**

**Débora Monteiro Brentano**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina - UFSC, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Ambiental, linha de pesquisa Toxicologia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. William Gerson Matias

Florianópolis - SC

2006

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DO TESTE DE TOXICIDADE  
CRÔNICA COM *Daphnia magna*: AVALIAÇÃO DE EFLUENTES TRATADOS  
DE UM ATERRO SANITÁRIO**

DÉBORA MONTEIRO BRENTANO

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Engenharia Ambiental como parte dos requisitos para obtenção do grau de

**MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL**

na área de Toxicologia Ambiental.

Aprovado por:

---

Maria Cristina da Silva Maurat, Dra.

---

Armando Borges Castilhos Júnior, Dr.

---

Cátia Regina Silva de Carvalho Pinto, Dra.

---

Paulo Sérgio Salomon, Dr.

---

Henry Xavier Courseuil, Dr.  
(Coordenador)

---

William Gerson Matias, Dr.  
(Orientador)

FLORIANÓPOLIS, SC - BRASIL  
MARÇO DE 2006

O deus átomo repousa nas rochas,  
cresce nas plantas, anda nos animais,  
pensa nos homens e ama nos anjos.

Por isto respeite: as rochas como se fossem plantas,  
as plantas como se fossem animais,  
os animais como se fossem homens  
e os homens como se fossem anjos.

*Inscrição Rupestre (Tibet 3.000 a.C.)*

Aos meus pais,  
Paulo Roni e Maria Beatriz Brentano,  
pela vida, o amor e o exemplo.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Prof. Dr. William Gerson Matias pela orientação e extensivamente a toda equipe do Laboratório de Toxicologia Ambiental - LABTOX.

À Bióloga Nara Regina Terra, da Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luís Roessler do Rio Grande do Sul - FEPAM, pela atenção e transferência de conhecimento.

À equipe do Laboratório Integrado de Meio Ambiente - LIMA da UFSC.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo fomento à pesquisa, através da bolsa de mestrado.

À empresa Pró-Activa Meio Ambiente Brasil Ltda., em especial à Engenheira Fernanda e ao Químico Roberto.

À minha família que, mesmo a distância, sempre esteve presente.

Aos meus amigos e amor que, em Florianópolis, foram minha família.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>v</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
2.1 Objetivo geral.....	4
2.2 Objetivo específico.....	4
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>6</b>
3.1 Resíduos sólidos.....	6
3.1.1 Situação dos resíduos sólidos em âmbito nacional e estadual.....	6
3.1.2 Resíduos sólidos e legislação correlata.....	11
3.1.3 O aterro sanitário.....	14
3.1.4 Efluente de aterro sanitário.....	19
3.2 Toxicologia Ambiental.....	22
3.2.1 Monitoramento ecotoxicológico.....	22
3.2.2 Vantagens da utilização do monitoramento ecotoxicológico.....	26
3.2.3 Seleção do organismo-teste.....	27
3.2.4 Princípio do método.....	30
3.3 Caracterização da Área de Estudo.....	34
3.3.1 O aterro sanitário estudado.....	34
3.3.2 Processo de cloração do efluente do Aterro Sanitário de Biguaçu.....	37
<b>4. MATERIAS E MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
4.1 Definição do organismo-teste.....	41
4.2 Metodologia de cultivo.....	41
4.3 Controle da sensibilidade dos organismos-teste.....	43
4.4 Metodologia de teste agudo.....	44
4.5 Metodologia de teste crônico.....	46

4.5.1	Desenvolvimento do teste crônico.....	46
4.5.2	Parâmetros analisados durante o teste crônico.....	51
4.5.3	Validação do teste crônico.....	53
4.5.4	Análise estatística.....	53
4.6	Metodologia de lavagem de material.....	54
4.7	Coleta, armazenamento e preservação das amostras.....	55
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>59</b>
5.1	Estabilidade dos organismos-teste.....	59
5.2	Definição da validade dos testes crônicos.....	59
5.3	Comparação entre amostra refrigerada e congelada.....	61
5.3.1	Parâmetros físicos e químicos.....	61
5.3.2	Toxicidade aguda.....	62
5.3.3	Toxicidade crônica.....	62
5.3.3.1	Longevidade.....	63
5.3.3.2	Crescimento.....	63
5.3.3.3	Fecundidade.....	65
5.4	Comparação entre o percolado tratado clorado e não clorado.....	67
5.4.1	Parâmetros físicos e químicos.....	67
5.4.2	Toxicidade Aguda.....	68
5.4.3	Toxicidade Crônica.....	68
5.4.3.1	Toxicidade Crônica - Bateria 2 (B2) .....	69
5.4.3.1.1	Longevidade.....	69
5.4.3.1.2	Crescimento.....	70
5.4.3.1.3	Fecundidade.....	71
5.4.3.2	Toxicidade Crônica - Bateria 3 (B3) .....	73
5.4.3.2.1	Longevidade.....	73
5.4.3.2.2	Crescimento.....	74
5.4.3.2.3	Fecundidade... ..	75
5.5	Comparação entre percolado tratado clorado e não clorado coletado periodicamente.....	77
5.5.1	Parâmetros físicos e químicos.....	77
5.5.2	Toxicidade aguda.....	78
5.5.3	Toxicidade crônica.....	78



5.5.3.1 Longevidade.....	79
5.5.3.2 Crescimento.....	79
5.5.3.3 Fecundidade.....	80
5.6 Implicações da desinfecção por cloração.....	82
5.7 Forma de preservação da amostra.....	84
5.8 Observações morfológicas.....	85
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>93</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>95</b>
<b>8. REFRÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>97</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>105</b>
<b>ANEXOII.....</b>	<b>110</b>
<b>ANEXO III.....</b>	<b>115</b>
<b>ANEXO IV.....</b>	<b>120</b>
<b>ANEXO V.....</b>	<b>125</b>
<b>ANEXO VI.....</b>	<b>128</b>
<b>ANEXO VII.....</b>	<b>129</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b> Protocolo para registro das observações em teste crônico com <i>Daphnia magna</i> Straus, 1820.....	50
<b>Tabela 2-</b> Resultados dos testes desenvolvidos para determinação dos critérios de validade dos testes de toxicidade crônica com <i>Daphnia magna</i> .....	60
<b>Tabela 3-</b> Resultado dos parâmetros físicos e químicos da amostra da bateria 1 (B1). ....	62
<b>Tabela 4-</b> Resultado dos parâmetros físicos e químicos das amostras das baterias de teste 2 e 3 (B2 e B3). ....	67
<b>Tabela 5-</b> Resultado dos parâmetros físicos e químicos da amostra da bateria 4 (B4). ....	78
<b>Tabela 6-</b> Número de organismos-teste que apresentaram malformação no dorso da carapaça em cada uma das diluições dos testes das baterias realizadas.....	88
<b>Tabela 7-</b> Número de organismos-teste que apresentaram má-formação do espinho final em cada uma das concentrações dos testes das baterias realizadas. ....	91

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b>	Situação da disposição final dos resíduos sólidos no Estado de Santa Catarina. Fonte: Estado de Santa Catarina (2001), pg. 31.....	10
<b>Figura 2-</b>	Fases metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de transformação anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos. Fonte: Adaptado de Cotrim (1997) <i>apud</i> Bidone e Povinelli (1999), pg. 34. ....	18
<b>Figura 3-</b>	Organismo-teste <i>Daphnia magna</i> com 24h de idade(40X).....	28
<b>Figura 4-</b>	Localização do município de Biguaçu/SC (latitude 27,49° e longitude 48,65°). Fonte: Estado de Santa Catarina, 2005 < <a href="http://www.mapainterativo.ciasc.gov.br">www.mapainterativo.ciasc.gov.br</a> >...	34
<b>Figura 5-</b>	Reator UASB e laboratório de tratamento físico-químico do aterro sanitário de Biguaçu. Ao fundo o sistema de lagoas de tratamento. Fonte: Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.	35
<b>Figura 6-</b>	Sistema de lagoas de estabilização do aterro sanitário de Biguaçu. Fonte: Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.....	36
<b>Figura 7-</b>	Esquema do teste de toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .....	45
<b>Figura 8-</b>	Preparação das soluções-teste com precisão volumétrica para um teste agudo. ....	45
<b>Figura 9-</b>	Esquema do teste de toxicidade crônica com <i>Daphnia magna</i> . ....	47
<b>Figura 10-</b>	Teste de toxicidade crônica com <i>Daphnia magna</i> realizado no Laboratório de Toxicologia Ambiental.....	48
<b>Figura 11-</b>	As 10 réplicas da solução-teste de 100% em um teste de toxicidade crônica. ....	48

<b>Figura 12-</b>	Medida do comprimento total de <i>Daphnia magna</i> . Medição realizada após 21 dias de teste.....	51
<b>Figura 13-</b>	Fluxograma para análise estatística de dados. Fonte: EPA (2002a).....	54
<b>Figura 14-</b>	Desenho amostral. Discriminação dos procedimentos executados em cada bateria de teste.....	57
<b>Figura 15-</b>	Número médio de filhotes por fêmea obtidos nos 9 testes realizados. O valor circulado em vermelho corresponde ao valor mínimo de filhotes produzidos por fêmea para validação de um teste.....	61
<b>Figura 16-</b>	Número de <i>Daphnia magna</i> adultas sobreviventes expostas ao percolado tratado refrigerado e congelado.....	63
<b>Figura 17-</b>	Comparação entre o tamanho de <i>Daphnia magna</i> após 21 dias expostas ao percolado de aterro sanitário tratado sem cloração, mantido sob refrigeração e congelamento.....	64
<b>Figura 18-</b>	Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por <i>Daphnia magna</i> quando expostas ao percolado tratado refrigerado e congelado com seus respectivos controles.....	65
<b>Figura 19-</b>	Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por <i>Daphnia magna</i> quando expostas ao percolado tratado refrigerado e congelado.....	66
<b>Figura 20-</b>	Número de <i>Daphnia magna</i> adultas sobreviventes expostas percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$ e percolado tratado com cloração na concentração de $23\mu\text{L.L}^{-1}$ (B2).....	69
<b>Figura 21-</b>	Comparação do tamanho de <i>Daphnia magna</i> após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e tratado com cloração (concentrações de 2,3 e $23\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (B2).....	70
<b>Figura 22-</b>	Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por <i>Daphnia magna</i> quando expostas ao percolado tratado, e percolado tratado com cloração na concentração de $23\mu\text{L.L}^{-1}$ (B2).....	72

<b>Figura 23-</b>	Número de <i>Daphnia magna</i> adultas sobreviventes expostas ao percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$ e percolado tratado com cloração na concentração de $23\mu\text{L.L}^{-1}$ (B3).....	73
<b>Figura 24-</b>	Comparação do tamanho de <i>Daphnia magna</i> após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e tratado com cloração (concentrações de $2,3$ e $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) (B3).....	74
<b>Figura 25-</b>	Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por <i>Daphnia magna</i> quando expostas ao percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ e percolado tratado com cloração na concentração de $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ (B3).....	75
<b>Figura 26-</b>	Número de <i>Daphnia magna</i> adultas sobreviventes expostas ao percolado tratado e percolado tratado com cloração.....	79
<b>Figura 27-</b>	Comparação do tamanho de <i>Daphnia magna</i> após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e percolado tratado com cloração, avaliado através de coletas periódicas.....	80
<b>Figura 28-</b>	Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por <i>Daphnia magna</i> quando expostas ao percolado tratado e percolado tratado clorado. ....	81
<b>Figura 29-</b>	Exemplos das malformações encontradas nas carapaças de <i>Daphnia magna</i> . (Aumento de 40 X). ....	86
<b>Figura 30-</b>	Índice de malformações observados nos testes realizados na bateria 2 (B2). ....	87
<b>Figura 31-</b>	Lesão na carapaça visualizada em embriões expostos à substância ETU. O local da lesão coincide com o local da lesão identificada nesta pesquisa. Fonte: Ohta (1997).....	89
<b>Figura 32-</b>	Exemplos das malformações encontradas nos espinhos de <i>Daphnia magna</i> . (Aumento de 40 X). ....	92

## RESUMO

DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DO TESTE DE TOXICIDADE CRÔNICA COM *Daphnia magna*: AVALIAÇÃO DE EFLUENTES TRATADOS DE UM ATERRO SANITÁRIO.

Devido às suas características, percolados de aterros sanitários necessitam tratamento antes de serem descartados no ambiente. Este tratamento, por vezes, inclui a desinfecção por cloração. A avaliação do percolado através de testes toxicológicos fornece informações seguras dos efeitos do mesmo sobre a biota aquática e vem a complementar o monitoramento físico e químico usual. O objetivo desta pesquisa foi desenvolver a análise de toxicidade crônica com *Daphnia magna*, e aplicá-la para avaliar a toxicidade crônica do efluente tratado de um aterro sanitário, comparando os efeitos crônicos do efluente clorado e não clorado sobre o organismo-teste. Observou-se que o efluente tratado antes da cloração não apresenta toxicidade aguda ou crônica ao organismo-teste, revelando um tratamento eficiente. Contudo, quando este efluente é clorado em laboratório a uma concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  de  $\text{NaClO}$ , simulando a real dosagem de cloro no aterro sanitário, o efluente, apesar de não apresentar toxicidade aguda, apresenta  $\text{CEO}=100\%$  e  $\text{CENO}=80\%$ . Já o efluente tratado com cloração na concentração  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  demonstrou ausência de toxicidade aguda, mas  $\text{CEO}=40,96\%$  sendo que a CENO não foi possível determinar nas condições de teste. A toxicidade crônica foi diretamente proporcional à concentração de cloro no efluente. Ainda, em termos toxicológicos, a qualidade do efluente sem cloração é superior àquele clorado.

Palavras-chave: teste crônico, *Daphnia magna*, efluente de aterro sanitário

## ABSTRACT

### DEVELOPMENT AND APPLICATION OF THE CHRONIC TOXICOLOGICAL TEST WITH *Daphnia magna*: EVALUATION OF TREATED EFFLUENTS FROM A SANITARY LANDFILL

Percolated liquids of sanitary landfills are potentially toxic, thus they need to be treated before being discarded in the environment. This treatment might include disinfection by chlorination. The evaluation of the leachate through toxicological tests allows disclosing information of the exact effect on the aquatic biota and comes as a complement to the physical and chemical monitoring usually used. The objectives of this research were to develop the chronic toxicological test with *Daphnia magna* to evaluate the chronic toxicity of treated effluents from a sanitary landfill. This was done by comparing the chronic effect of chlorinated and non-chlorinated effluents. The treated effluent before chlorination did not present acute or chronic toxicity to the test organism, indicating the efficiency of the treatment plant. However, when this effluent was chlorinated in laboratory to a concentration of  $2.3\mu\text{L.L}^{-1}$  NaClO, simulating the dosage of chlorine in sanitary landfills, it showed no acute toxicity, but had a Lowest-Observed Effect Concentration (LOEC) of 100% and a No Observed Effect Concentration (NOEC) of 80%. The treated effluent with chlorination in the concentration of  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  NaClO had no acute toxicity, but presented a LOEC of 40.96%, while the NOEC was not possible to determine under the test conditions. The increase in chronic toxicity was proportional to the chlorine concentration in the effluent. Moreover, in toxicological terms the quality of the effluent without chlorination is better than the chlorinated one.

Key words: chronic test, *Daphnia magna*, effluents from sanitary landfill

## 1. INTRODUÇÃO

O aterro sanitário é uma obra de engenharia que utiliza técnicas de disposição final de resíduos sólidos urbanos no solo, através de confinamento em camadas cobertas com material inerte, visando evitar danos ou riscos à saúde e à segurança, minimizando os impactos ambientais (ABNT, 1989).

No aterro sanitário se processa a degradação dos resíduos através de mecanismos físicos, químicos e biológicos, gerando a bioconversão da matéria orgânica em formas solúveis e gasosas. A mistura de uma grande variedade química, sob a influência de agentes naturais (chuva e microorganismos) é objeto de evoluções complexas, gerando um líquido conhecido como chorume.

O líquido percolado (chorume) apresenta elevada carga orgânica, substâncias tóxicas e recalcitrantes em sua composição. Por este motivo, após ser coletado pelos drenos horizontais no fundo do aterro sanitário, existe a necessidade de tratamento, visando especialmente a redução da DQO e  $\text{NH}_4^+$  a níveis satisfatórios para, posteriormente, ser lançado no ambiente.

A realização do monitoramento de percolado de aterro sanitário após tratamento, visando garantir níveis seguros para disposição do mesmo no ambiente, segundo Saar (2002), pode ser realizada por uma série complexa de parâmetros físicos e químicos. Contudo, nenhum destes parâmetros é capaz de determinar se a amostra poderá ter efeitos tóxicos na biota aquática.

Assim, para complementar os testes físico-químicos pode-se usar ferramentas da toxicologia ambiental.



Dentro do paradigma da toxicologia ambiental encontra-se a ecotoxicologia, que, segundo Matias (1996), é a ciência que estuda os impactos deletérios de poluentes ambientais sobre populações de organismos vivos ou ecossistemas, considerando a interação dos poluentes com o meio ambiente (mobilidade, degradabilidade, bioacumulação e bioamplificação).

Segundo Knie e Lopes (2004), na ecotoxicologia o uso de reativos biológicos permite a detecção de substâncias a concentrações bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análises químicas. Além disto, a matéria viva responde de forma integrada a todos os fatores perturbadores, o que inclui efeitos produzidos por substâncias novas na água, formadas através de interações. Esta resposta, via de regra, se subtrai da análise química. Assim, os bioensaios permitem, geralmente, uma avaliação bastante segura do potencial tóxico de substâncias ou de meios contaminados, permitindo também deduções indiretas do seu risco para o meio ambiente. Desta forma, testes toxicológicos vêm a ser ótimas ferramentas para auxiliar na tomada de decisões visando a preservação da biota aquática.

A aplicação dos princípios de ecotoxicologia demanda a seleção de um organismo-teste. Para o desenvolvimento desta pesquisa elegeu-se o organismo-teste *Daphnia magna* (Rand, 1995), pois além de todas as vantagens apresentadas pelo uso deste organismo, o Laboratório de Toxicologia Ambiental - LABTOX (local de realização desta pesquisa) possui dados de monitoramento de chorume utilizando este organismo no aterro sanitário localizado no município de Biguaçu/SC, que é administrado pela empresa Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.

No aterro sanitário de Biguaçu/SC, após o tratamento do percolado por reator UASB, físico-químico e lagoas de estabilização, ocorre a desinfecção por cloração. Utiliza-se o hipoclorito de sódio a 0,5%, em uma dosagem de 0,007 mL.s<sup>-1</sup>, sendo que a vazão do efluente é de 3L.s<sup>-1</sup>. A concentração de hipoclorito de sódio no efluente é, portanto, de 0,0023mL.L<sup>-1</sup> ou 2,3 µL.L<sup>-1</sup>.

Os estudos já realizados com o efluente do aterro sanitário de Biguaçu elucidam seu efeito agudo. Usando o microcrustáceo *Daphnia magna*, Finkler (2002) encontrou elevado potencial tóxico agudo para o efluente bruto

(CE(I)<sub>50</sub>48h=6,162,5%), enquanto que o efluente tratado sem cloração não apresentou toxicidade aguda.

Ainda, os estudos de testes de reprodução de 21 dias com *Daphnia magna*, realizados por Finkler (2002) usando como amostra o percolado bruto, provou efeito sobre o sistema reprodutivo do organismo-teste nas concentrações de 0,5, 0,75 e 1,0%, e, para o percolado tratado nas concentrações de 80, 90 e 100%.

Contudo, faz-se necessário um aprofundamento na investigação dos efeitos crônicos, visando quantificar a concentração de efeito observado (CEO) e a concentração de efeito não observado (CENO), através da realização de teste crônico. Além disto, não há dados ecotoxicológicos que caracterizem o efluente após o tratamento completo, incluindo a cloração.

No entanto, não existe na literatura protocolos definidos e publicados para teste crônico com *Daphnia magna*. Existe um protocolo desenvolvido pela "Organization for Economic Co-operation and Development" - OECD (OECD, 1984) para *Daphnia magna*, mas trata-se de um teste sub-letal. No Brasil, existem pesquisas sendo desenvolvidas sobre testes crônicos com *Daphnia magna*, mas os procedimentos são divergentes entre as instituições de pesquisa, não havendo uma uniformidade nos métodos aplicados.

Diante deste contexto, desenvolveu-se a metodologia de análise de toxicidade crônica com o organismo-teste *Daphnia magna*, objetivando avaliar a toxicidade crônica do efluente tratado do aterro sanitário de Biguaçu, comparando os efeitos do efluente clorado e não clorado sobre o organismo-teste.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a toxicidade crônica de efluentes tratados de um aterro sanitário, utilizando o microcrustáceo *Daphnia magna* como organismo-teste.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Desenvolver a metodologia de análise de toxicidade crônica, usando como organismo-teste o microcrustáceo *Daphnia magna*;

Verificar, entre resfriamento e congelamento, qual a forma de preservação de efluente tratado de aterro sanitário mais adequada para desenvolvimento de teste de toxicidade crônica;

Determinar a CENO e CEO de efluente tratado de aterro sanitário, antes e após cloração, para o organismo-teste *Daphnia magna*;

Comparar o efeito de dois tipos de amostragem: coleta pontual e coletas periódicas, na avaliação da toxicidade crônica de efluente tratado de aterro sanitário, antes e após cloração.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 RESÍDUOS SÓLIDOS**

##### **3.1.1 Situação dos resíduos sólidos em âmbito nacional e estadual**

O constante crescimento das populações urbanas, a forte industrialização, a melhoria no poder aquisitivo dos povos de uma forma geral, vêm instrumentalizando a acelerada geração de grandes volumes de resíduos sólidos, principalmente nas cercanias das grandes cidades (Bidone e Povinelli, 1999).

Também, a crescente urbanização e a diversidade das atividades humanas geram um passivo de difícil gerenciamento: a disposição final dos resíduos sólidos. Segundo Firta *et al.* (2003) o impacto ambiental e as dificuldades causadas pela produção crescente de resíduos sólidos representam um assunto muito importante e discutido entre os tomadores de decisão e os órgãos ambientais.

Segundo Bidone *et al.* (1997), a disposição descontrolada e inadequada de resíduos sólidos destaca-se, entre as atividades antrópicas, por gerar sérios problemas de degradação do meio ambiente, provocando alterações no solo, ar e nos recursos hídricos, acarretando, assim, a poluição do meio ambiente e reduzindo a qualidade de vida do homem.

Resíduos sólidos são resíduos em estado sólido e semi-sólido, que resultam das atividades da comunidade de origem: industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviço e de varrição. Ficam incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água e aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviáveis seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d'água, ou exijam para isto soluções técnicas e economicamente inviáveis em face a melhor tecnologia disponível (NBR 10.004) (ABNT, 2004).

No ano de 2000, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE realizou a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - PNSB (IBGE, 2002) que investigou as condições de saneamento básico de todos os municípios brasileiros.

Em relação aos resíduos sólidos, a PNSB revelou que, em 2000, eram coletadas 125.281 toneladas de lixo domiciliar, diariamente, em todos os municípios brasileiros. Trata-se de uma quantidade expressiva de resíduos, para os quais deve ser dado um destino final adequado, sem prejuízo à saúde da população e sem danos ao meio ambiente.

Entretanto, para destinação final dos resíduos sólidos urbanos 63,6% dos municípios utilizam lixões e 32,2%, aterros adequados (13,8% sanitários, 18,4% aterros controlados), sendo que não se tem o conhecimento do destino final dos resíduos dos 5% dos municípios brasileiros restantes.

A maioria dos municípios brasileiros utiliza a pior forma de disposição do lixo: o lançamento a céu aberto (lixão). Segundo Bidone e Povinelli (1999), lixões podem ser definidos como a forma de disposição final de resíduos urbanos na qual estes são simplesmente descarregados sobre o solo, sem medidas de proteção ao meio ambiente ou à saúde pública. Esta forma de disposição facilita a proliferação de vetores, geração de maus odores, poluição das águas superficiais e subterrâneas, além da perda do controle sobre o material que está sendo encaminhado para o local de disposição.

Já o aterro controlado, citado pela pesquisa do IBGE como alternativa para 18,4% dos municípios brasileiros, é um local para disposição final do lixo

onde precauções tecnológicas executivas foram adotadas durante o desenvolvimento do aterro. Estas incluem impermeabilização do solo com argila, aumento da segurança do local e controle do material recebido. De acordo com Bidone e Povinelli (1999), é preferível ao lixão, mas não substitui o aterro sanitário. Isto porque o aterro sanitário é a forma de disposição final dos resíduos sólidos no solo, dentro de critérios de engenharia, proporcionando o confinamento seguro dos resíduos com o menor volume possível, evitando riscos a saúde pública e minimizando os impactos ambientais.

Dentre os critérios de engenharia pode-se mencionar o sistema de drenagem periférica e superficial para afastamento de águas de chuva, o sistema de drenagem de fundo para coleta de lixiviado, sistema de tratamento para o lixiviado drenado e drenagem e queima dos gases gerados durante o processo de bioestabilização da matéria orgânica (Bidone; Povinelli, 1999).

O aterro sanitário, melhor forma de disposição final dos resíduos entre as citadas, trata-se da forma menos usada no Brasil (13,8%). Contudo, a PNSB anterior, realizada em 1989, mostrava que o percentual de municípios que vazavam seus resíduos de forma adequada era de apenas 10,7% (IBGE, 2002). Assim, nota-se uma tendência de melhora da situação da disposição final do lixo no Brasil nos últimos anos, mas que não permite atingir a qualidade desejada de destinação final do lixo urbano no Brasil.

Em relação a população dos municípios, há uma outra constatação revelada pela PNSB (IBGE, 2002). Observa-se uma tendência de aumento da geração do lixo domiciliar *per capita* em proporção direta com o número de habitantes. Nas cidades com até 200 mil habitantes, pode-se estimar a quantidade coletada, variando entre 450 e 700 gramas por habitante/dia; acima de 200 mil habitantes, essa quantidade aumenta para a faixa entre 800 e 1.200 gramas por habitante/dia.

Mais recentemente, em 2002, o IBGE realizou o Diagnóstico do Manejo de Resíduos Sólidos Urbanos 2002 (IBGE, 2004). Este diagnóstico foi elaborado com uma amostragem de 2,2% do total de municípios existentes no país. Admitindo-se a estimativa da população total do IBGE para o ano 2002, a população total dos municípios amostrados perfaz um montante de 55.229.594 habitantes, valor que corresponde a 31,7% da população total.

Com relação às instalações destinadas ao processamento de resíduos tem-se que, entre as 154 instalações dessa natureza identificadas, predominam as unidades de triagem de resíduos recicláveis (52), seguidas das valas específicas para o enterramento de resíduos de serviços de atenção à saúde (33), dos aterros específicos para entulhos da construção civil (21) e das unidades de compostagem (17). Dada sua natureza peculiar, merecem também menção especial as 09 unidades de incineração e as 12 unidades de transbordo identificadas.

No que diz respeito às instalações de disposição dos resíduos sólidos urbanos, apenas 32 instalações foram consideradas aterro sanitário, com base no atendimento (meramente qualitativo) aos requisitos considerados essenciais para instalações dessa natureza, no contexto atual (IBGE, 2004).

O diagnóstico ressalta a considerável massa total dos resíduos triados (ou recuperados) através de diferentes iniciativas ao longo do ano de 2002: 165.120 toneladas, abrangendo, em números redondos, 49.634 toneladas de papel e papelão, 40.013 toneladas de plásticos diversos, 18.720 toneladas de metais, 11.438 toneladas de vidros e 10.155 toneladas de outros tipos de resíduos.

Já em nível estadual, no ano de 2001, o Estado de Santa Catarina, através da Secretaria do Estado de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente, publicou o relatório conclusivo do diagnóstico do levantamento de dados dos resíduos sólidos nos municípios de Santa Catarina, com o objetivo de formular a política estadual de resíduos sólidos.

Este diagnóstico foi elaborado com base nos levantamentos de dados coletados nos anos de 1996/1998 e 1999/2000, através dos quais constatou-se que a coleta atingiu em dezembro de 2000, aproximadamente, 63,39 e 80,52% da população total e urbana, respectivamente.



Dos resíduos sólidos, gerados por 3.391.289 habitantes, que são atendidos por coleta regular (todos residentes em zona urbana), 80,59% dos resíduos são depositados em lixão e 19,41% são dispostos em aterros sanitários (Figura 1).

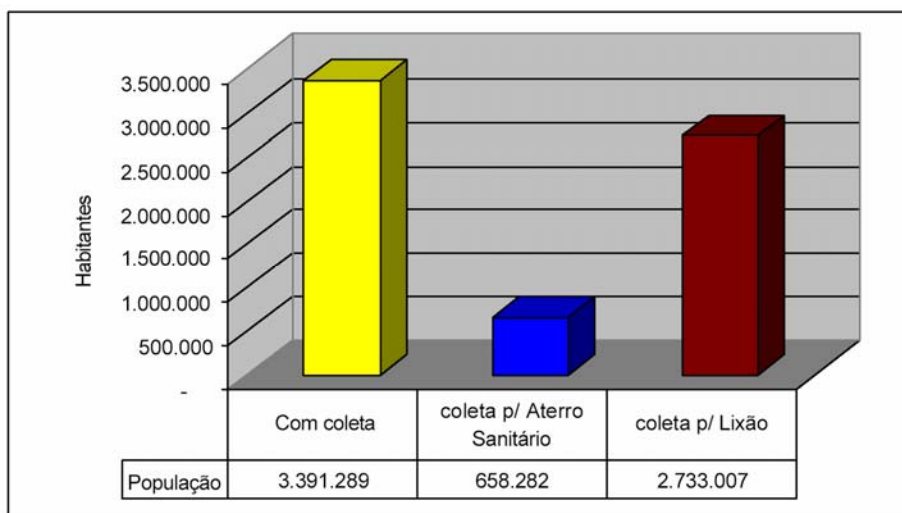


FIGURA 1: Situação da disposição final dos resíduos sólidos no Estado de Santa Catarina.

Fonte: Estado de Santa Catarina (2001), pg. 31.

Analisando a Região da Grande Florianópolis, a coleta regular de lixo atende a 94,09% da população urbana, onde são coletadas 700 ton/dia. Dessas, 57,43% (402 ton/dia) são dispostas em aterro sanitário, 42,57% (297 ton/dia) em lixões e 6,71% (47 ton/dia) não são coletadas. O município de Florianópolis, isoladamente, responde por cerca de 47,29% (331 ton/dia) da produção diária da região.

No Estado existem 7 aterros sanitários em operação e licenciados pela Fundação do Meio Ambiente de Santa Catarina - FATMA. Os aterros situados nos municípios de Biguaçu, Brusque, Saudade, Palmitos são privados, os situados nos municípios de Chapecó, Itaiópolis e Seara são municipais.

Segundo este diagnóstico, o aterro sanitário operado pela Pró-ativa Meio Ambiente Brasil Ltda., objeto desta pesquisa, recebe os resíduos sólidos domiciliares dos municípios de Biguaçu, Bombinhas, Florianópolis, Governador Celso Ramos, Porto Belo e Tijucas.

O levantamento realizado pelo Estado de Santa Catarina permitiu estimar ainda que, no ano de 2000, foram gerados 4.906 ton/dia de resíduos sólidos de origem doméstica, indicando uma geração per capita de 0,917kg/hab/dia. Corroborando o citado na PNSB 2000 (IBGE, 2002), que afirma que em cidades com mais de 200 mil habitantes, a quantidade de lixo per capita aumenta, na Região da Grande Florianópolis registrou-se o recolhimento de 1,03 kg/hab/dia, índice acima da média estadual.

Ainda, a coleta seletiva é uma iniciativa isolada, identificada em 36 municípios, porém em escala reduzida, ou seja, cobrindo apenas partes de determinadas áreas dos municípios (Estado de Santa Catarina, 2001).

Após a análise dos dados descritos, oriundos de pesquisas em nível nacional e estadual, observa-se que os resíduos sólidos ainda vêm sendo tratados pelas administrações municipais em um contexto secundário, como as demais questões de saneamento em geral. Segundo IBGE (2004), somente uma pequena verba do orçamento municipal (5%, no máximo) é destinada para a limpeza urbana, o que denota a ausência de investimento em soluções sanitárias adequadas para disposição final do lixo nos municípios brasileiros, ou até mesmo, recursos escassos para o gerenciamento quando as condições adequadas para disposição final do lixo já existem.

Contudo, na atualidade espera-se que diante da legislação ambiental existente, as administrações municipais sejam convencidas a implementarem as soluções sanitárias adequadas nos municípios, assegurando a qualidade de vida da população e a preservação do ambiente.

### **3.1.2 Resíduos sólidos e legislação correlata**

A legislação Brasileira, ligada às questões ambientais, sofreu considerável avanço nos últimos anos. Hoje, existe no cenário nacional, um amplo aparato normativo que demonstra a tutela jurídica do meio ambiente em nosso País. O aspecto institucional circunscreve-se, de certa forma, à atuação integrada do Sistema Nacional do Meio Ambiente – SISNAMA, criado pela Lei nº 6.938/1981, que representa um conjunto articulado de órgãos, entidades,

regras e práticas da União, do Distrito Federal, dos Estados e dos Municípios, responsáveis pela proteção da qualidade ambiental (Estado de Santa Catarina, 2001).

Para a questão dos resíduos sólidos, no Brasil, existem referências na Constituição Federal de 1988, em especial nos artigos 20, 23, 24 e 225. O tema "resíduos sólidos" é pertinente à questão de saneamento, portanto ligada ao regramento estabelecido na legislação para a questão sanitária e ambiental (Brasil, 2001).

Considerando que a coleta, o tratamento e a disposição final dos resíduos sólidos são matérias incluídas na competência comum referente ao saneamento básico, prescrita no artigo 23, inciso IX, da Constituição Federal, também abrangido pelas questões ambientais, é preciso caracterizar a competência dos entes governamentais para exercer o controle ambiental nesse setor, do ponto de vista material e formal (Estado de Santa Catarina, 2001).

Assim, a limpeza urbana é considerada um dos serviços públicos de competência municipal. Contudo, por ser este tema de extrema importância ambiental, com reflexos diretos na saúde da população, o legislador constitucional conferiu à União Federal, competência para traçar normas gerais destinadas a garantir o controle da poluição e impedir a degradação do meio ambiente conforme artigo 24, VI, da Constituição Federal (Brasil, 2001).

Assim, cabe à União, em matéria ambiental, relacionada diretamente ao setor de resíduos sólidos, a competência privativa de instituir, entre outras, diretrizes nacionais para o desenvolvimento urbano e saneamento básico (artigo 21, inciso XX, da Constituição Federal). Nas diretrizes para o saneamento básico, incluem-se as que possam relacionar-se com o setor de resíduos sólidos. Porém, essas diretrizes são nacionais e se referem a serviços públicos de interesse comum de todos os entes federados. Isso significa que a União não pode estabelecer diretrizes que, especificamente, digam respeito à gestão administrativa estadual, distrital, regional ou local desses serviços públicos, sob pena de praticar intervenção na autonomia daqueles entes, proibida pelo estatuto constitucional. A instituição dessas diretrizes deve ser feita mediante lei de caráter nacional (Estado de Santa Catarina, 2001).

Atualmente, o Brasil não possui uma legislação nacional para gestão dos Resíduos Sólidos. Tem-se observado a criação de leis estaduais em alguns Estados pioneiros, como é o caso do Rio Grande do Sul que promulgou a lei nº 9.921, em 27 de julho de 1993, que dispõe sobre a gestão dos resíduos sólidos neste Estado. Mais recentemente outros Estados aprovou suas próprias políticas estaduais de resíduos sólidos. É o caso do Paraná que promulgou a lei nº 12.493 em 22 de janeiro de 1999; do Ceará que promulgou a lei nº 13.103, em 24 de janeiro de 2001; de Goiás que instituiu lei nº 14.248, em 29 de julho de 2002; e do Rio de Janeiro que aprovou a lei nº 4.191, em 30 de setembro de 2003.

O Estado de Santa Catarina não possui legislação institutiva da Política Estadual de Resíduos Sólidos. Contudo, na Constituição Estadual os artigos 9, 39, 107, 138, 140, 141, 144, 148, 153, 164, 177, 181, 182, 183, 184 e 185 abordam o tema. Além disto existe projeto de lei no aguardo de apreciação.

Entretanto, apesar da ausência de legislação estadual para resíduos sólidos, existe uma portaria da FATMA, a portaria nº 17/02, de 18 de abril de 2002 (Estado de Santa Catarina, 2002), que estabelece Fatores de Diluição - FD máximos para emissão de efluentes de aterro sanitário. São eles 8 para *Daphnia magna* e 16 para *Vibrio fischeri*.

Além desta portaria, o Decreto Estadual nº 14.250, de 05 de junho de 1981 (Estado de Santa Catarina, 1981), em seu artigo 19, define as condições nas quais os efluentes de qualquer atividade (o que inclui efluentes de aterro sanitário) poderão ser lançados no ambiente. Neste caso, define uma série de parâmetros físicos e químicos e define que os efluentes líquidos não deverão conferir ao corpo receptor características em desacordo com os critérios e padrões de qualidade de água, adequados aos diversos usos benéficos previstos para o corpo de água.

Assim, de acordo com o artigo 11, em águas de classe 1 não serão tolerados lançamentos de efluente. E, considerando a melhor qualidade da água de um corpo receptor (classe 2), a quantidade de coliformes totais e fecais tolerada está definido no artigo 12 e corresponde a 5.000 Número Mais Provável de colônias - NMP/100mL para coliformes totais e 1.000 NMP/100mL para coliformes fecais.

### 3.1.3 O aterro sanitário

De acordo com a NBR 8419, aterro sanitário constitui a técnica de disposição final de resíduos sólidos urbanos no solo, através de confinamento em camadas cobertas com material inerte, geralmente solo, segundo normas específicas, de modo a evitar danos ou riscos à saúde e à segurança, minimizando os impactos ambientais (ABNT, 1989).

Na atualidade o aterramento sanitário é considerado o método de disposição final dos resíduos sólidos que, através de princípios de engenharia, minimiza os impactos causados pela disposição dos mesmos, sendo adequado para tal fim. Na execução de um aterro sanitário, princípios básicos são executados. Dentre eles destaca-se a implantação de dispositivo de drenagem e tratamento de gases, drenagem e tratamento de lixiviados, afastamento das águas pluviais, canalização de eventuais córregos e nascentes do local, recobrimento diário e sistemático com argila, isolamento e impermeabilização mínima das células após o alcance da altura limite e urbanização do parque.

Se a obra for executada dentro dos princípios acima citados, segundo Bidone e Povinelli (1999), decorrem vantagens inequívocas. O aterro sanitário é solução para qualquer volume, apresenta simplicidade executiva, não exige equipamentos diferentes daqueles já existentes nos municípios (no caso de aterros municipais), permite o controle de vetores e transforma o material degradável em estável.

Outras vantagens podem ser referidas. Por exemplo, a recuperação da energia na forma de gás metano e a produção de fertilizante a partir da matéria orgânica bruta. Contudo, são questões que ainda carecem de comprovação da viabilidade técnica e econômica (Bidone; Povinelli, 1999).

Segundo os mesmos autores, logicamente este tipo de disposição final pode trazer algumas desvantagens. Normalmente elas localizam-se em áreas afastadas do perímetro urbano, o que pode significar transporte em trechos longos, ou a necessidade de estações de transbordo, e a conseqüente geração de poluição sonora e do ar causada pela frota de veículos envolvida. Os aterros produzem águas residuárias, que necessariamente precisam ser tratadas. A

degradação dos resíduos é lenta (degradação anaeróbia) e para sua correta operação, dependendo das características do terreno, pode haver necessidade de importação de materiais de cobertura de outros locais.

No aterro sanitário, a mistura de uma grande variedade química, sob a influência de agentes naturais (chuva e microorganismos) é objeto de evoluções complexas, constituídas pela superposição de mecanismos físicos, químicos e biológicos. Além da dissolução dos elementos minerais e do carreamento pela água de percolação das finas partículas e do material solúvel, o principal responsável pela degradação dos resíduos é a bioconversão da matéria orgânica em formas solúveis e gasosas (Castilhos Junior *et al.*, 2003).

Segundo Bidone e Povinelli (1999) a transformação do material orgânico bruto em bioestabilizado nos aterros sanitários, com a geração de gás metano (metanogênese), é assumida conceitualmente como um processo de cinco etapas. Sendo elas:

#### Fase I -Ajustamento Inicial

Fase de disposição dos resíduos gerando acúmulo de umidade. Subsistência inicial, cobertura da área. Início do processo de estabilização detectado por mudanças nos parâmetros ambientais. Segundo Castilhos Junior *et al.* (2003), os organismos aeróbios dão início à primeira das fases do processo de decomposição dos resíduos sólidos urbanos. A matéria orgânica polimérica é, num primeiro momento, submetida à ação de enzimas extracelulares específicas secretadas por microorganismos. Os oligômeros e monômeros assim produzidos são em seguida degradados.

#### Fase II - Transição

Fase em que se inicia a formação do percolado e ocorre a transição da fase aeróbia para anaeróbia. As bactérias anaeróbias estritas ou facultativas são responsáveis pela transformação da matéria orgânica hidrolizada, sem no entanto, estabilizá-la. Estabelecem-se as condições de óxido-redução e aparecem compostos intermediários (ácidos voláteis).

### Fase III - Formação de Ácidos

Predominam ácidos orgânicos de cadeia longa. O pH decresce e como consequência ocorre a mobilização e possível complexação de espécies metálicas. Ocorre a liberação de nutrientes com N e P que servirão de suporte ao crescimento microbiano. O hidrogênio é detectado e a sua presença afeta a natureza e o tipo de produtos intermediários em formação.

### Fase IV - Fermentação Metânica

Os produtos intermediários que apareceram durante a fase de formação dos ácidos são convertidos em  $\text{CH}_4$  e  $\text{CO}_2$ . O pH retorna a condição de tampão, controlado pelos ácidos voláteis. Os potenciais redox estão nos valores mais baixos. Ocorre a precipitação e complexação dos metais. Ainda, a DQO reduz drasticamente e conseqüentemente aumenta a produção de gás.

### Fase V - Maturação Final

A atividade biológica passa a ser praticamente inativa. Aliado a escassez de nutrientes, ocorre a paralisação de produção dos gases. Aumenta o valor do potencial redox com o aparecimento de  $\text{O}_2$  e espécies oxidadas. Ocorre a conversão lenta dos materiais orgânicos resistentes aos microorganismos em substâncias húmicas complexadas com metais.

Entre os microorganismos participantes da degradação da matéria orgânica pode-se destacar alguns grupos, segundo Bidone e Povinelli (1999).

As bactérias fermentativas exercem papel importante nos dois estágios iniciais da digestão anaeróbia. Produzem enzimas que, liberadas no meio, hidrolizam compostos de cadeia complexa (celulose, pectina, hemicelulose) e os transformam em compostos moleculares de cadeia simples. Estes últimos são fermentados e resultam em etanol, buriatos, acetatos e propinatos.

As bactérias acetogênicas de hidrogênio são essenciais a degradação anaeróbia pois fermentam ácidos voláteis de cadeia maior que a do metanol, transformando-os em hidrogênio e acetato.

Já as bactérias acetogênicas consumidoras de H<sub>2</sub> (homoacetogênicas) fermentam um amplo espectro de compostos de um carbono e ácido acético. Têm alta eficiência termodinâmica, como consequência da não formação de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> durante o crescimento de cadeias longas.

As bactérias metanogênicas, mais conhecidas que aquelas anteriormente citadas, desenvolvem-se bem onde o potencial redox varie em torno de -300mV e pH entre 6,8 e 7,2. O crescimento e produção de CH<sub>4</sub> por estas bactérias ocorre em meio rico em amônia, sulfetos ou cisteína como fontes de N e S respectivamente.

Freqüentemente associadas a estas, estão as bactérias redutoras de sulfato produzindo acetato, H<sub>2</sub> e sulfetos que serão utilizados pelas metanogênicas. O papel dos compostos de enxofre no metabolismo do aterro é complexo. Na forma de SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e S<sup>-2</sup>, é utilizado pelos organismos para formação de biomassa, sendo o SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> também utilizado com acceptor de elétrons. O SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> tem se mostrado inibidor da metanogênese, talvez pela redução a S<sup>-2</sup> que é tóxico, e pela competição por substratos comuns a outros organismos.

De acordo com Cotrim (1997) *apud* Bidone e Povinelli (1999) as fases metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de transformação anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos pode ser resumida na figura 2.



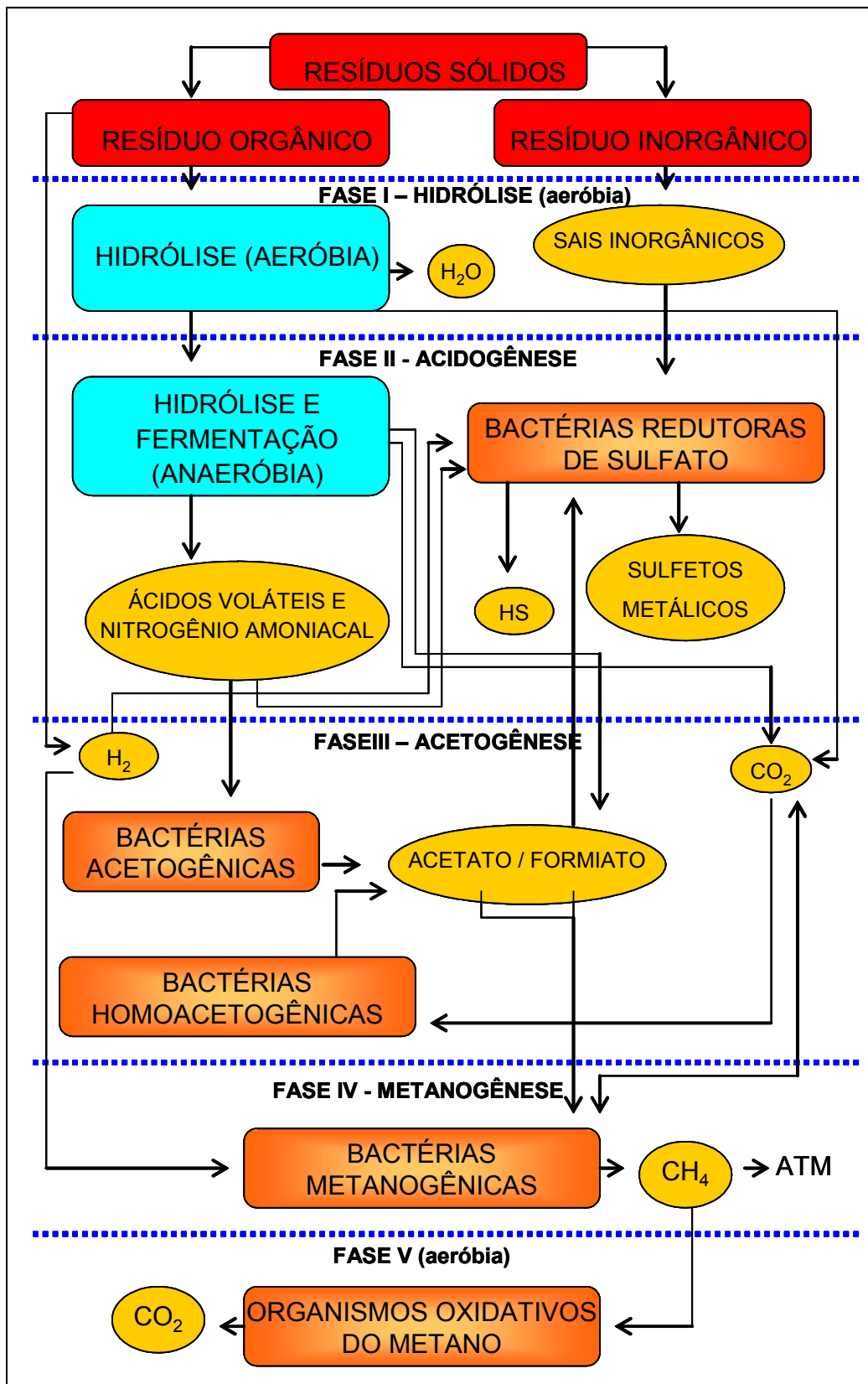


FIGURA 2: Fases metabólicas e grupos microbianos envolvidos no processo de transformação anaeróbia de resíduos sólidos orgânicos.

Fonte: Adaptado de Cotrim (1997) *apud* Bidone e Povinelli (1999), pg. 34.

Logicamente em aterros existe a presença de toxicidade, o que poderia inibir o crescimento microbiano anaeróbio e sabotar a boa degradação no aterro. Contudo, segundo Bidone e Povinelli (1999) a inibição causada pelas substâncias tóxicas tem se mostrado reversível, pois as populações anaeróbias têm grande capacidade de adaptação às cargas tóxicas.

A toxicidade verificada em aterros está relacionada à concentração da substância tóxica, a forma de aplicação do agente, ao tempo de exposição, a fatores ambientais como pH e temperatura e a possíveis efeitos antagônicos e sinérgicos. Os principais agentes tóxicos verificados em processos anaeróbios, como é o caso dos aterros sanitários, são cátions alcalinos, alcalinos terrosos, amônia, sulfetos, metais pesados, compostos orgânicos (ácidos voláteis), oxigênio e outras substâncias como detergentes, antibióticos, cianetos e produtos químicos dispostos no lixo (Bidone e Povinelli, 1999).

O conjunto dos fenômenos de degradação anaeróbia descritos conduz à geração de metabólitos gasosos e ao carreamento pela água de moléculas muito diversas, as quais originam os vetores da poluição em aterro sanitário: o biogás e o percolado (Castilhos Junior *et al.*, 2003). No presente trabalho, o enfoque recai sobre os percolados, tema do qual tratará o próximo item.

### **3.1.4 Efluente de aterro sanitário**

O processo de decomposição predominantemente anaeróbio em aterros sanitários gera, como subproduto da atividade microbiana, o chorume (percolado), que tem como características a cor negra, o pH ácido e o mal cheiro.

Os percolados em aterros sanitários são definidos como os líquidos provenientes de três fontes principais: umidade natural dos resíduos sólidos, água de constituição dos diferentes materiais que sobram durante o processo de decomposição e líquido proveniente de materiais orgânicos digeridos pelas enzimas bacterianas (Reichert, 2000).

Assim, levando em conta o primeiro item citado por Reichert, a composição dos resíduos afeta diretamente as taxas de produção e a concentração dos componentes do percolato gerados no aterro.

Segundo Bidone e Povinelli (1999), a umidade no aterro é, talvez, o parâmetro mais importante pois favorece o meio aquoso essencial para o processo de produção de gás, e serve também como transporte para microorganismos dentro do aterro. Nas condições brasileiras a umidade varia de 40 a 60%.

Para Bidone e Povinelli (1999), a geração do percolato é função da umidade contida nos resíduos e no solo e da quantidade de água infiltrada. Segundo os autores, pode-se atribuir isso a um ou a todos os seguintes fatores:

- Aoresíduo: geração do percolato devido à compactação e a técnica de disposição utilizada na execução do aterro;
- A percolação: caminhos preferenciais de percolação diminuindo o tempo de detenção do líquido nas células do aterro;
- Frente úmida: faixa ampla de resíduos com altos teores de umidade, aumentando o volume do percolato antes que o sistema atinja a capacidade de produção;
- Frente única principal: a quantidade de água que entra no sistema é igual a que sai como percolato.

A geração do percolato indica que a massa de lixo excedeu sua capacidade máxima de retenção de líquido e, portanto, está com alto nível de saturação.

Este líquido deve ser gerenciado ambientalmente, visando a preservação ambiental. A consequência ambiental de descarga do chorume nas águas naturais é a elevação da DBO, pois a DBO destes líquidos é muito alta. Segundo Reichert (2000), em torno de 30 a 150 vezes maior que a do esgoto doméstico cujo valor oscila entre 200 e 300 mg.L<sup>-1</sup>. Além disto, este efluente apresenta grande concentração de nitrogênio amoniacal, solúvel em água e tóxico a partir de determinadas concentrações.

Ratificando esta informação, destaca-se, segundo Couto e Braga (2003), entre as características do chorume sua potencial toxicidade por conter metais pesados e altos níveis de DBO e DQO.

Ainda, existe a possibilidade da presença de substâncias recalcitrantes em chorumes dificultando a degradação de certas substâncias químicas por vias microbianas. Segundo Silva (2002), as substâncias podem oferecer dificuldade à biodegradação em decorrência de fatores como:

estrutura química complexa desprovida de grupos funcionais reativos;

a molécula pode exercer uma ação tóxica sobre a microflora ou ainda inativar enzimas chaves do metabolismo celular;

ou a molécula pode se complexar ou interagir com elementos ou compostos químicos tornando-se pouco acessível às enzimas extracelulares e a posterior metabolização.

No caso dos chorumes, a recalcitrância estaria associada à presença de compostos de elevada massa molecular com estruturas muito complexas como é o caso de substâncias húmicas (Urase *et al.*, 1997).

Leite *et al.* (1982) afirma que as cargas orgânicas e tóxicas da composição dos líquidos percolados podem comprometer por muito tempo a qualidade das águas superficiais ou subterrâneas, situadas nas proximidades do aterro.

Desta forma, após serem coletados pelos drenos horizontais no fundo do aterro sanitário, existe a necessidade de tratamento do chorume, visando especialmente a redução da DQO e  $\text{NH}_4^+$  a níveis satisfatórios, para, posteriormente, serem lançados em cursos d'água ou dispostos no solo.

O tratamento pode ser feito por qualquer processo que possibilite a remoção das frações dissolvidas de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal. Normalmente este nível de eficiência só pode ser alcançado por processos secundários de tratamento de esgoto, como é o caso de lodos ativados, filtros biológicos, lagoas de estabilização, entre outros processos de grande eficiência.

## **3.2 TOXICOLOGIA AMBIENTAL**

### **3.2.1 Monitoramento ecotoxicológico**

Após o tratamento do percolado de aterro sanitário, faz-se necessário o monitoramento deste, visando sua correta destinação a corpos hídricos, conseqüente preservação da biota aquática e da qualidade da água para uso humano.

Monitoramento é, segundo a Resolução CONAMA nº 357, artigo 2º, inciso XXV, a medição ou verificação de parâmetros de qualidade e quantidade de água, que pode ser contínua ou periódica, utilizada para acompanhamento da condição e controle da qualidade de água (Brasil, 2005).

Segundo Lobo e Callegaro (2000), o termo geral “monitoramento da qualidade da água” inclui tanto o monitoramento físico e químico quanto o monitoramento biológico. Desses dois enfoques, o monitoramento biológico destaca-se basicamente em função de dois importantes argumentos. Primeiro, os organismos apresentam uma resposta integrada ao seu ambiente, e, segundo, se o que interessa é manter comunidades biológicas saudáveis, é muito mais apropriado monitorar as comunidades aquáticas que somente as variáveis físicas e químicas.

Para realização do monitoramento de percolado de aterro sanitário, uma série complexa de parâmetros físicos e químicos pode ser utilizada. Contudo nenhum destes parâmetros é capaz de determinar se a amostra poderá ter efeitos tóxicos na biota aquática (Saar, 2002).

Assim, como alternativa a complementação da caracterização física e química de efluentes, recomenda-se a avaliação toxicológica (Zagatto *et al.*, 1988; Bohrer, 1995; Goldstein, 1988).

Toxicologia ambiental é o termo usado para descrever o estudo científico dos efeitos adversos causados aos organismos vivos pelas substâncias químicas no ambiente. Há uma tendência em utilizar-se a expressão toxicologia

ambiental somente para os estudos dos efeitos diretos das substâncias químicas sobre os seres humanos (Chasin e Pedrozo, 2003).

Segundo Matias (1996), uma subdivisão da toxicologia ambiental é a ecotoxicologia, que estuda os impactos deletérios de poluentes ambientais sobre populações de organismos vivos ou ecossistemas, considerando a interação dos poluentes com o meio ambiente (mobilidade, degradabilidade, bioacumulação e bioamplificação).

Corroborando esta afirmação, Truhaut (1977) *apud* Chasin e Pedrozo (2003) define que o termo toxicologia ambiental é utilizado para a área da toxicologia em que se estudam os efeitos nocivos causados pela interação de agentes químicos contaminantes do ambiente com organismos humanos, enquanto ecotoxicologia é empregado para relacionar os efeitos tóxicos das substâncias químicas e dos agentes físicos sobre os organismos vivos, especialmente nas populações e nas comunidades de um ecossistema definido, incluindo os caminhos da transferência desses agentes e sua interação com o ambiente.

Neste contexto, este trabalho está inserido no paradigma da ecotoxicologia, em especial na toxicologia global, uma vez que os efeitos avaliados fornecerão indicações globais (não específicas sobre tecidos ou órgãos) de um impacto tóxico do produto testado sobre o organismo vivo.

O termo ecotoxicologia foi cunhado pelo professor e pesquisador francês René Truhaut, em 1969, reunindo a designação eco (do grego *oikos*, elemento de composição com o significado de casa, domicílio, habitat: ecologia) e a palavra toxicologia (ciência dos agentes tóxicos, dos venenos e da intoxicação) (Azevedo e Chasin, 2003).

Ecotoxicologia segundo Kendall (1996) *apud* Chasin e Azevedo (2003) é o estudo do destino e dos efeitos das substâncias químicas sobre o ecossistema, com base em métodos de laboratório e de campo, que estuda de forma quali-quantitativa os efeitos adversos das substâncias químicas, considerando suas inter-relações no ecossistema e atuação nos organismos.

Para Truhaut (1977) *apud* Chasin e Pedrozo (2003) a ecotoxicologia é o estudo científico dos efeitos adversos causados aos organismos vivos pelas substâncias químicas no ambiente.

Já para Zagatto *et al.* (1988), Bohrer (1995) e Goldstein (1988), a ecotoxicologia é a moderna ciência que estuda o impacto potencialmente deletério de substâncias ou compostos químicos que constituem poluentes ambientais sobre os organismos vivos. No contexto deste trabalho, esta definição molda-se melhor aos objetivos do mesmo. Isto porque, ao contrário das outras definições, inclui a ação de poluentes ambientais sobre o organismo (é o caso do choroume a ser avaliado, composto por inúmeras substâncias) e não apenas substâncias químicas. Desta forma, esta definição é mais abrangente e completa.

Considera-se como objetivos da ecotoxicologia avaliar a toxicidade de poluentes em laboratório e no meio ambiente; compreender os mecanismos de ação de substâncias tóxicas e avaliar o risco que substâncias ou compostos químicos tóxicos apresentam para o meio ambiente.

Segundo Azevedo e Chasin (2003) nos estudo de ecotoxicidade, avaliam-se os efeitos causados ao organismo-teste, por meio da exposição de organismos representativos do ambiente às várias concentrações do efluente ou da substância potencialmente tóxica a ser testada, por período determinado.

São avaliados os efeitos agudos, onde se observa letalidade e imobilidade, e os efeitos crônicos, em que se observa alterações no crescimento, reprodução e sobrevivência.

O desenvolvimento de métodos em ecotoxicidade é assunto complexo, e de maneira geral, tem por finalidade a predição de efeitos ambientais, a comparação entre substâncias e o monitoramento de efluentes.

Segundo Azevedo e Chasin (2003), a ecotoxicologia auxilia a tomada de decisões para intervenções instantâneas ou para formulação de políticas públicas com vistas à proteção da saúde humana e do meio ambiente. Ainda, ações de gestão ambiental que visam proteger a integridade dos meios físico e biótico, bem como grupos sociais que deles dependem requerem uma série de medidas, muitas delas com gênese na ecotoxicologia. Dentre estas medidas

pode-se citar a toxicovigilância, o controle e fiscalização dos usos e recursos ambientais, bem como o processo de avaliação e licenciamento de operações com potencial poluidor químico.

Os primeiros estudos na área de ecotoxicologia incluíram pesquisas básicas para definir e identificar a biologia e morfologia dos corpos d'água, incorporando investigações sobre como os seres vivos interagem, tratando e reduzindo a poluição orgânica. Cita-se o trabalho de Shoering e Muntz, que, em 1877, demonstrou o papel das bactérias no processo de nitrificação (Fonseca, 1997).

Ainda, segundo a mesma autora, Forbes, em 1887, foi um dos primeiros pesquisadores a realizar um estudo integrado, classificando os rios em zonas de poluição, baseado nas espécies tolerantes e sua presença ou ausência nos ecossistemas aquáticos.

Os primeiros testes de toxicidade aguda consistiam na exposição de produtos químicos ou efluentes a um número limitado de espécies. Segundo Fonseca (1997), os cientistas Penny e Adams, em 1863, e Weigelt e colaboradores, em 1885, foram alguns dos primeiros autores a realizar estes testes. De acordo com o mesmo autor, Carpenter, em 1924, foi o autor que publicou o primeiro dos trabalhos expressivos de toxicidade do chumbo e zinco.

Finkler (2002) cita que o organismo-teste *Daphnia magna* é utilizado em teste de toxicidade desde a década de 40 e nos últimos 20 anos tem sido utilizado em testes de toxicidade agudos e crônicos, regulatórios e em pesquisa básica de ecotoxicologia.

Atualmente, a padronização de métodos para testes de toxicidade é um esforço da comunidade científica. As normas para realização de testes de toxicidade com organismos de água doce têm sido amplamente desenvolvidas e implementadas internacionalmente. No Brasil, tais normas encontram-se em revisão, visando a unificação e padronização das metodologias adotadas no país. No entanto, a aplicação de tais testes já é uma realidade, pois a Resolução CONAMA nº 357 (Brasil, 2005) que dispõe sobre a classificação de corpos d'água preconiza a utilização de testes de toxicidade para classificação, avaliação e monitoramento dos corpos d'água e efluentes.



### 3.2.2 Vantagens da utilização do monitoramento ecotoxicológico

O monitoramento usual, realizado através de parâmetros físicos e químicos, ao ser complementado pelo monitoramento de caráter ecotoxicológico, permite avaliar amplamente corpos d'água complexos, uma vez que o resultado do teste ecotoxicológico baseia-se na resposta da biota ao conjunto de substâncias que compõe o meio aquático (Brentano e Lobo, 2003).

A decisão por um programa de utilização de testes de toxicidade aquática para caracterização da qualidade da água e de efluentes reduzem as limitações encontradas nas análises físicas e químicas, pois fornecem informações adicionais do perigo de uma substância potencialmente tóxica sobre a biota aquática (Nunes e Fonseca, 2002; Fonseca, 1997).

Para Bohrer (1995), isto é possível pois os testes ecotoxicológicos apontam informações como os efeitos resultantes das interações de compostos químicos e, ainda, permitem estabelecer diluições necessárias para reduzir ou prevenir efeitos tóxicos em águas receptoras, bem como avaliar o impacto dos corpos receptores e determinar a persistência da toxicidade.

Neste sentido, Baudo (1987) *apud* Fonseca (1997), afirma que as concentrações de compostos químicos, potencialmente tóxicos em um efluente, às vezes são menores que a detecção por métodos analíticos convencionais. Zagatto *et al.* (1988) afirmam que devido à grande complexidade das substâncias num mesmo efluente líquido, torna-se inviável a sua completa caracterização, não só do ponto de vista analítico, como econômico. Ainda, segundo os mesmos autores, estudos têm demonstrado que os resultados obtidos através dessas análises dificilmente fornecem informações sobre o conjunto das substâncias que, interagindo entre si, podem afetar deletariamente a biota presente no ambiente aquático.

Ainda, sintetizando algumas das vantagens já citadas, Knie e Lopes (2004) escrevem:

"Muitas vezes os sistemas biológicos já reagem a concentrações de substâncias bem abaixo dos limites de detecção por métodos de análises químicas. Além disto, em função da resposta integrada da matéria viva a todos os fatores perturbadores, a reação dos organismos inclui também os efeitos produzidos por substâncias novas na água, formadas através de interações, as quais, via de regra, se subtraem da análise química. Assim, os bioensaios permitem, geralmente, uma avaliação bastante segura do potencial tóxico de substâncias ou de meios contaminados, permitindo também deduções indiretas do seu risco para o meio ambiente e, com muita cautela, para o homem."

Desta forma, estudos ecotoxicológicos são indispensáveis na avaliação de efluentes complexos, contribuindo na busca de medidas mitigadoras e possibilitando não apenas a minimização do impacto ambiental causado por efluentes tóxicos, mas também a garantia da manutenção da vida aquática.

### **3.2.3 Seleção do organismo-teste**

A aplicação dos princípios de ecotoxicologia demanda a seleção de um organismo-teste. O organismo-teste é selecionado seguindo alguns critérios. Dentre eles cita-se: disponibilidade e abundância do organismo-teste no ambiente, facilidade de cultivo em laboratório e conhecimento da biologia da espécie. São espécies indicadoras, preferencialmente, espécies sensíveis e locais (Bohrer, 1995).

Rand (1995) ratifica o critério de facilidade de manutenção e cultivo em laboratório e acrescenta a necessidade de representatividade do organismo em relação a um determinado grupo de importância ecológica, a estabilidade genética gerando populações uniformes e a pertinência como membro de uma família que pertença a cadeia alimentar do homem.

Dentre as espécies que atendem tais critérios, que é amplamente utilizada internacionalmente e cuja metodologia de cultivo e teste é normatizada em vários países, cita-se o microcrustáceo *Daphnia magna* Straus, 1820 (Figura 3).



FIGURA 3: Organismo-teste *Daphnia magna* com 24h de idade(40X).

Este organismo foi selecionado como organismo-teste para esta pesquisa por ser amplamente conhecido, facilmente cultivado e mantido em laboratório e por ter reprodução freqüente, o que garante o suprimento para testes constantes. Ainda, precisa-se pequena infra-estrutura, os custos para manutenção são baixos e as respostas aos agentes ambientais são rápidas devido ao seu ciclo de vida. Além de atender a grande parte dos critérios de seleção para um organismo-teste, pesa o fato de o LABTOX já possuir dados de monitoramento de efluente de aterro sanitário utilizando este organismo.

A biologia de *Daphnia magna* já foi amplamente estudada. Segundo Ruppert e Barnes (1996), é classificada taxonomicamente no filo Arthropoda, subfilo Crustacea, classe Branchiopoda, ordem Diplostraca, subordem Cladocera, família Daphnidae. Dentre os microcrustáceos, *Daphnia magna* é comumente chamada de pulga d'água, e como parte do zooplâncton, ocupa uma importante posição nas cadeias alimentares aquáticas.

Segundo os mesmos autores, o nome Branchiopoda caracteriza a classe que possui coxas providas de epípodos achatados que servem como brânquias. Os animais da ordem Diplostraca são lateralmente comprimidos, com a cabeça livre e o tronco fechado dentro de uma carapaça bivalve que

termina posteriormente em um espinho apical. A extremidade da ponta do tronco, o pós abdômen, vira-se ventralmente e para frente, portando garras e espinhos especiais para limpeza da carapaça.

A nutrição se dá pela captura das partículas em suspensão através da atração das cargas opostas das partículas e a superfície de um filtro. Este filtro é composto por cerdas finas dos apêndices do tronco e coleta partículas da corrente hídrica, transferindo-as para o sulco alimentar meio-ventral, e posteriormente para a boca. A excreção é realizada por glândulas.

As pulgas d'água nadam por meio das segundas antenas, sendo que o movimento é predominantemente vertical e geralmente desajeitado. O curso descendente das antenas propõe o animal para cima; depois ele afunda lentamente, utilizando as antenas como um pára-quedas. As pequenas cerdas plumosas na extremidade do abdômen agem como estabilizadoras. O olho naupliano é composto e sésil, fundido em um único olho mediano, que persiste na fase adulta, sendo útil para orientar o animal no nado (Ruppert e Barnes, 1996).

O padrão reprodutivo dos cladóceros é cíclico e depende de fatores abióticos. A partenogênese é comum à classe, sendo os machos desconhecidos em algumas espécies.

Os ovos diplóides partenogenéticos são produzidos em cachos e incubados em uma câmara incubatória dorsal localizada por baixo da carapaça. O desenvolvimento é direto e os jovens são liberados da câmara incubatória por meio de uma flexão ventral do pós-abdômen da fêmea.

Os ovos partenogenéticos são liberados por gerações, e uma fêmea pode produzir uma sucessão de incubações. Contudo, em algum ponto, determinados fatores (alteração na temperatura da água, redução do suprimento alimentar em função de um aumento populacional) induzem o aparecimento de machos e são produzidos ovos fertilizados.

Os ovos fertilizados são grandes e só são produzidos dois em uma ninhada, um de cada ovário. As paredes da câmara incubatória encontram-se então transformadas em uma cápsula protetora em forma de sela (efípio). Esta é descartada na próxima muda, ou separando-se do exoesqueleto, ou

permanecendo com o resto do mesmo. Os efípios flutuam, afundam ou aderem a objetos podendo suportar o ressecamento e o congelamento até a passagem pelo intestino dos peixes, das aves e dos mamíferos que se alimentam de peixes. Por meio de tais ovos em repouso protegidos, os cladóceros podem dispersar-se pelo vento ou por meio de animais por algumas distâncias e podendo sobreviver ao inverno e às secas de verão (Ruppert e Barnes, 1996).

Quatro períodos podem ser reconhecidos no ciclo de vida de daphnias: ovo, juvenil, adolescente e adulto. O ciclo de vida do ovo até a morte do adulto varia de acordo com as condições ambientais. Em geral, o ciclo de vida aumenta com o decréscimo da temperatura, em função da diminuição da atividade metabólica. A 20°C a média do ciclo de vida de *Daphnia magna* (de ovo a adulto) é de 56 dias (Rand, 1995).

#### **3.2.4 Princípio do método**

Os métodos de testes de toxicidade aquática podem ser categorizados de acordo com o tempo de exposição, situação de teste, efeitos a serem avaliados e organismos a serem testados (Rand, 1995).

Em geral, o princípio do método de avaliação de toxicidade ambiental consiste na exposição de organismos-teste a várias diluições da amostra a ser testada, por um período determinado de tempo (NBR 12.713) (ABNT, 2003a).

Neste contexto, levando em consideração o tempo de exposição, os testes de toxicidade aquática podem ser classificados, segundo Rand (1995) e Knie e Lopes (2004) em testes de toxicidade aguda, testes crônicos e testes de curta duração ou subletais.

Os testes de toxicidade aguda são desenvolvidos para determinar a toxicidade relativa de uma amostra sobre um organismo aquático selecionado, exposto a várias concentrações desta amostra, em um curto período de tempo. O tempo de exposição geralmente compreende 24-48h. Os efeitos avaliados são mortalidade, no caso de peixes; imobilidade, no caso de invertebrados; e crescimento, no caso de algas. O resultado é expresso em Concentração

Efetiva Mediana - CE50, ou seja, a concentração na qual 50% da população exposta sobrevive à amostra a qual foi exposta no período de tempo determinado.

O objetivo deste teste é determinar a concentração do material (substância química ou efluente) que produz um efeito deletério na população exposta durante um curto período de tempo sob condições controladas (Rand, 1995).

Já os testes crônicos permitem avaliar os possíveis efeitos adversos de uma amostra sob condições de longo tempo de exposição a concentrações subletais (Rand, 1995). O teste crônico expõe o organismo-teste ao agente potencialmente tóxico durante todo seu ciclo de vida, incluindo estágios sensíveis como juventude, crescimento, maturidade sexual e reprodução. Avaliam-se efeitos como desenvolvimento e reprodução. O resultado é expresso em Concentração de Efeito Não Observado - CENO, sendo esta a mais alta concentração do agente testada que não provoca efeito quando comparada com o controle; e em Concentração de Efeito Observado - CEO, a mais baixa concentração que causa efeito significativo sobre a população quando comparada ao controle.

E, finalmente, os testes de curta duração ou subletais são desenvolvidos focando os estágios mais sensíveis da vida do organismo, contudo não cobrem todo o ciclo ontogênico do mesmo. Avaliam-se efeitos no crescimento, reprodução e sobrevivência, sendo os resultados reportados em CE50, CENO e CEO (Rand, 1995).

Para realização de testes agudos com *Daphnia magna*, dentre a normatização internacional, cita-se a existência de duas normas: a americana estabelecida pela "International Standard Organization" - ISO 6341 (ISO, 1996) e a alemã desenvolvida pelo "Deutsches Institut für Normung" - DIN 38412 (DIN, 1989). No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT normatizou o uso da espécie através da NBR 12.713 (ABNT, 2003a).

Já para a realização de testes crônicos com *Daphnia magna*, não há protocolos definidos e publicados.

O que encontra-se na literatura internacional é um protocolo da "Organization for Economic Co-operation and Development" - OECD, o "Guidelines 202", (OECD, 1984) desenvolvido para *Daphnia magna*. Os testes, contudo, são realizados em um período de 14 dias, com fluxo semi-estático, e avaliam a reprodução do organismo. Assim, este teste não visa a determinação da CEO e CENO e sim uma avaliação geral do desempenho reprodutivo das fêmeas como um indicativo de contaminação ambiental. Outrossim, não cobre todo o ciclo ontogênico do indivíduo, avaliando apenas as primeiras proles, sendo classificado então como um teste sub-letal.

Em nível nacional, existem pesquisas utilizando *Daphnia magna* para realização de testes crônicos (Terra e Feiden, 2003; Terra *et al.*, 2003; Terra *et al.*, 2004). Mas, por tratar-se de pesquisa não há uniformidade nos métodos empregados entre laboratórios.

Fazendo uma revisão menos restritiva, encontram-se protocolos definidos por órgãos internacionais e nacionais para Cladóceros em geral. É o caso do protocolo da "Environmental Protection Agency" - EPA - que estabeleceu um método, o 1002.0 (EPA, 2002a) para *Ceriodaphnia dubia*. Neste teste, a avaliação da toxicidade crônica é feita em 7 dias, em condições semi-estáticas, visando a determinação de CEO e CENO.

No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT desenvolveu a NBR 13.373 intitulada Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustacea, Cladocera) (ABNT, 2003b). Conforme o título, este protocolo refere-se a testes com o organismo *Ceriodaphnia* spp. O teste é realizado em 7 dias, com fluxo semi-estático e avalia a reprodução do organismo. O teste é desenvolvido para estabelecimento da CEO e CENO.

O teste crônico é importante e complementar ao teste agudo pois a ausência de efeito agudo não caracteriza ausência de efeito sobre a biota. Segundo Terra e Feiden (2003) a expressão de muitos agressores ambientais somente torna-se visível quando estão presentes em altas doses. Entretanto, quando eles existem em porções menores seus efeitos na bagagem genética dos indivíduos, interferem nas suas funções fisiológicas, altera a frequência reprodutiva e/ou a qualidade e quantidade de organismos gerados.

Atualmente, no Brasil, os testes crônicos são contemplados na Resolução CONAMA nº 357 (Brasil, 2005) e exigidos para realização do enquadramento dos corpos hídricos. Para fins de interpretação da resolução, efeito tóxico crônico é definido como efeito deletério aos organismos vivos causado por agentes físicos ou químicos que afetam uma ou várias funções biológicas dos organismos, tais como a reprodução, o crescimento e o comportamento, em um período de exposição que pode abranger a totalidade de seu ciclo de vida ou parte dele; (Brasil, 2005).

A mesma resolução descreve em seu artigo 8º, inciso 4º que possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados na resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.

Ainda, no artigo 34, está explícito que os efluentes de qualquer fonte poluidora somente poderão ser lançados, direta ou indiretamente, nos corpos de água se não causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Nesta situação, a execução de um teste crônico permitiria revelar um efeito mais sensível sobre os organismos, a longo prazo, devido a agentes tóxicos presentes em pequenas doses e seria apropriado quando os testes agudos não revelam toxicidade. A ação lenta de poluentes sobre a biocenose é um aspecto importante a ser considerado e que hoje já encontra-se contemplado em legislação nacional.



### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

#### 3.3.1 O aterro sanitário estudado

A área de estudo da presente pesquisa consistiu no aterro sanitário localizado no município de Biguaçu/SC (Figura 4), localizado no Bairro Areias de Cima, BR 101, Km 178, que é administrado pela empresa Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.

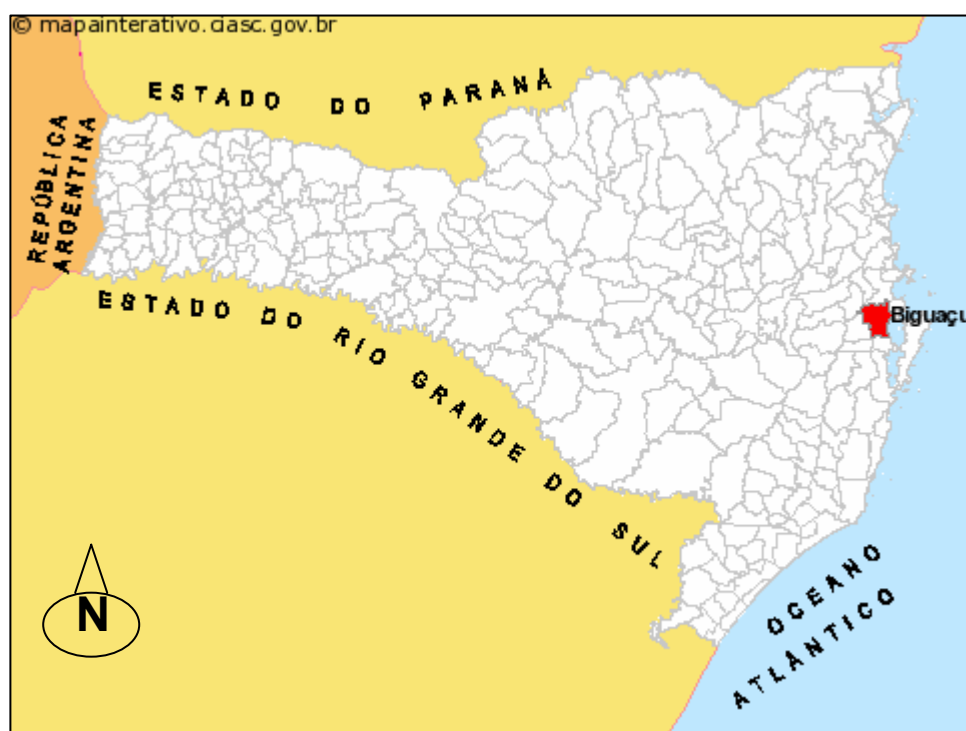


FIGURA 4: Localização do município de Biguaçu/SC (latitude 27,49° e longitude 48°,65).

Fonte: Estado de Santa Catarina, 2005 <[www.mapainterativo.ciasc.gov.br](http://www.mapainterativo.ciasc.gov.br)>

Este aterro sanitário está em operação há 15 anos e atualmente recebe resíduos de 27 municípios do Estado de Santa Catarina. O volume de resíduos recebido diariamente, (com base na baixa temporada) é de 600 toneladas.

O aterro está licenciado para receber resíduos domiciliares, hospitalares e inertes. Os resíduos classe I e IIa são encaminhados para um depósito de

armazenamento temporário para posterior encaminhamento a outro aterro, um aterro industrial licenciado.

O percolato gerado neste aterro recebe tratamento antes de seu descarte em corpo receptor, sendo que a Estação de Tratamento de Efluente - ETE trata em média  $3,0 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$  de percolato. Os tratamentos são físico-químico e biológico.

O processo de tratamento se dá após a drenagem dos líquidos percolados, que são conduzidos até o poço de equalização. Este poço tem por função apenas equalizar a vazão e a carga orgânica. Deste poço, o efluente passa pelo tratamento físico-químico, reator tipo UASB e decantador. Na figura 5 é possível visualizar o reator UASB e o laboratório onde ocorre o tratamento físico-químico.



FIGURA 5: Reator UASB e laboratório de tratamento físico-químico do aterro sanitário de Biguaçu. Ao fundo o sistema de lagoas de tratamento.

Fonte: Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.

O reator anaeróbico de fluxo ascendente com manta de lodo (tipo UASB), tem por objetivo digerir o efluente através de bactérias anaeróbicas. Em seguida, na linha de alimentação do decantador, são dosados os produtos

químicos: sulfato de alumínio, cal e polímero, para floculação/decantação. A vazão de saída deste tratamento atualmente é de  $3,0 \text{ L.s}^{-1}$ .

Na seqüência, após o decantador, o efluente é enviado ao sistema de lagoas de estabilização, que é composto por lagoas: anaeróbia, facultativa, aerada e de polimento (Figura 6).



FIGURA 6: Sistema de lagoas de estabilização do aterro sanitário de Biguaçu.

Fonte: Pró-activa Meio Ambiente Brasil Ltda.

Antes do lançamento do efluente tratado existe ainda um sistema de dosagem para desinfecção com Hipoclorito de sódio, visando a remoção de patógenos. A desinfecção final é feita com hipoclorito de sódio a concentração de 0,5% e vazão de 0,007 mL/s. O efluente assim tratado é lançado no Rio Inferninho.

O percolato do aterro sanitário de Biguaçu já foi fonte de diversas pesquisas do LABTOX. Realizaram-se testes de toxicidade aguda e testes de reprodução utilizando o organismo-teste *Daphnia magna*, além de testes de genotoxicidade com o organismo-teste *Geophagus brasiliensis*.

As pesquisas até então realizadas fornecem informações sobre o efeito agudo do efluente bruto e tratado, bem como indícios sobre efeito na reprodução de *Daphnia magna*. Contudo, faz-se necessário um

aprofundamento na investigação dos efeitos crônicos visando quantificar a CEO e CENO.

Além disto, não existem dados ecotoxicológicos que caracterizem o efluente após o tratamento completo, incluindo a cloração, forma como realmente será descartado no ambiente.

### **3.3.2 Processo de cloração do efluente do Aterro Sanitário de Biguaçu**

A cloração em água de abastecimento e águas poluídas serve primariamente para destruir ou desativar microorganismos patogênicos.

No aterro sanitário de Biguaçu a desinfecção ocorre no final do tratamento, sendo a última etapa antes do descarte no Rio Inferninho. Utiliza-se neste processo hipoclorito de sódio em uma dosagem de  $0,007 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ , sendo que a vazão do efluente é de  $3\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ . A concentração de hipoclorito de sódio no efluente é, portanto, de  $0,0023\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$  ou  $2,3 \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ .

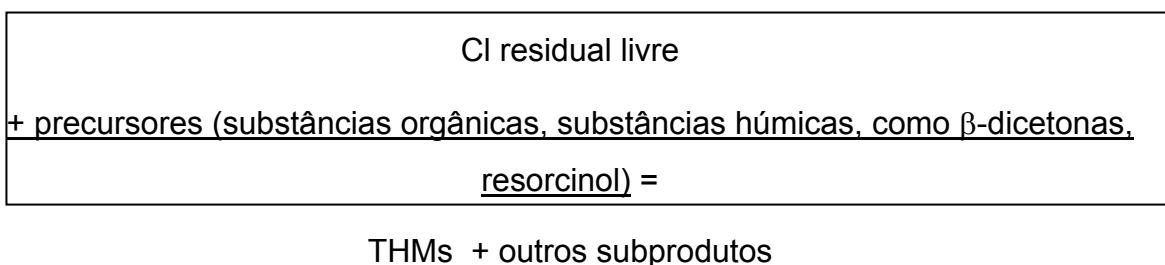
O cloro aplicado à água em sua forma molecular ou hipoclorito, inicialmente sofre hidrólise para forma de cloro livre, formando cloro molecular aquoso, ácido hipocloroso e íon hipoclorito. A proporção relativa destas três formas de cloro livre depende do pH e da temperatura (APHA *et al.*, 1995).

O cloro livre reage prontamente com amônia e com compostos nitrogenados para formar compostos de cloro combinado. Com amônia o cloro reage para formar cloraminas: monoclорamina, dicloroamina e tricloro nitrogênio. A presença e concentração destas formas combinadas depende principalmente do pH, temperatura, taxa inicial Cl/N, demanda absoluta de Cl e tempo de reação (APHA *et al.*, 1995).

Ambos, cloro livre e combinado, podem estar presentes simultaneamente. Efluentes de esgoto doméstico, bem como certos efluentes industriais clorados, normalmente contém apenas cloro em estado combinado devido a presença de amônia, aminas e compostos orgânicos, particularmente nitrogênio orgânico (APHA *et al.*, 1995).

Sabe-se que a cloração de águas pode gerar substâncias denominadas subprodutos da cloração, dentre elas destacam-se os trihalometanos (THM), que se originam das reações entre o cloro e as substâncias orgânicas, substâncias húmicas (os ácidos húmicos e flúvicos) presentes na água, ou compostos como  $\beta$ -dicetonas e compostos semelhantes, como resorcinol, que também favorecem a formação dos trihalometanos (Pereira e Luca, 1989).

Segundo Macêdo (2004), trihalometanos são compostos organoclorados, de baixo peso molecular e voláteis. O cloro residual livre e as substâncias precursoras reagem e originam os THMs, cuja formação é representada esquematicamente pela equação:



As substâncias húmicas, principais precursores dos THM são macromoléculas polifuncionais que alteram, com frequência, as suas conformações em função das interações que ocorrem entre os grupos funcionais presentes na sua estrutura. Essas substâncias possuem estruturas complexas e heterogêneas, compostas de carbono, oxigênio, hidrogênio e, algumas vezes, pequenas quantidades de nitrogênio, fósforo e enxofre. Ocorrem nos solos e águas naturais como consequência da decomposição de resíduos de plantas e animais, através de processos químicos, físicos e biológicos (Macêdo, 2004).

Segundo o mesmo autor, são divididas em três classes de materiais:

ácidos fúlvicos - materiais solúveis em água em todas as condições de pH;

ácidos húmicos - são solúveis em pH 2;

húmus - solúveis em qualquer pH.

Para Nikolau *et al.* (2004), um dos mais importantes fatores que afetam a formação dos subprodutos da cloração durante a desinfecção é o tempo de reação. A cinética de formação dos subprodutos de cloração pode ser diferente para diferentes categorias ou espécies de compostos, dependendo também, da dose de cloro, quantidade de matéria orgânica e a presença de íon brometo.

A observação comum de muitas pesquisas é uma rápida formação inicial de THM durante os primeiros 30-100min, seguido por uma taxa mais baixa de crescimento (Nikolaou *et al.*, 2004).

Pode-se afirmar que os parâmetros envolvidos na reação de formação de subprodutos da cloração são: tempo de reação, dose de cloro e cloro residual, matéria orgânica natural, pH, temperatura e presença de íons brometo (Nikolau *et al.*, 2004).

E, tem-se registrado que o aumento nas doses de cloro tem influência positiva na formação de subprodutos da cloração. O mesmo é verdadeiro para aumento da quantidade de matéria orgânica e aumento de temperatura (Nikolaou *et al.*, 2004).

Ainda, Nikolau *et al.* (2004) relata que a concentração de trihalometanos cresce com o tempo, enquanto alguns subprodutos volatilizam, como haloacetoneitrilas e halocetonas e podem ser decompostos por hidrólise e reagir com o cloro residual.

Cardoso e Luca (2004), em um estudo sobre a toxicidade do efluente de esgoto de sete ETEs, avaliados antes e após desinfecção, descobriram que para os efluentes não tóxicos, o efluente desinfectado foi também não tóxico. Já, para efluentes tóxicos, a desinfecção usualmente resultou em um aumento da toxicidade, com uma tendência geral de cloração>ozonização>irradiação ultravioleta.

No caso desta pesquisa, apesar de haver dados ecotoxicológicos que caracterizam o efluente tratado do aterro sanitário de Biguaçu, não existem investigações que o caracterizam após o tratamento completo, incluindo a cloração.

Diante da potencial toxicidade causada pela cloração descrita na literatura e comprovada por pesquisas citadas anteriormente, torna-se

extremamente relevante caracterizar a toxicidade aguda e crônica do efluente do aterro sanitário de Biguaçu.

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Definição do organismo-teste**

*Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladocera, Crustacea) é um microcrustáceo planctônico, de 5 a 6 mm de comprimento, que atua como consumidor primário na cadeia alimentar aquática, alimentado-se por filtração de material orgânico particulado em suspensão. Os organismos deste gênero são vulgarmente conhecidos como pulga d'água e têm larga distribuição no hemisfério norte (NBR 12.713, 2003a).

O organismo foi selecionado para esta pesquisa por ser amplamente conhecido, facilmente cultivado e mantido em laboratório e ter reprodução freqüente. Ainda, o fato de o LABTOX já ter desenvolvido pesquisas para monitoramento de percolado de aterro sanitário utilizando este organismo foi decisivo para a seleção do mesmo.

### **4.2 Metodologia de cultivo**

A metodologia de cultivo do organismo-teste *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladocera, Crustacea) seguiu o descrito na NBR 12.713 (ABNT, 2003a). O método de cultivo objetivou a manutenção do organismo-teste em laboratório, sob condições que permitam a avaliação da toxicidade de amostras



de efluentes líquidos, águas continentais superficiais ou subterrâneas e substâncias químicas solúveis ou dispersas em água, assegurando o controle da saúde e sensibilidade da população.

Os organismos-teste foram cultivados em água reconstituída (meio M4), com pH variando de 7,0 a 8,0 e dureza variando de 175 a 225 mg.L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>, (NBR 12.713, 2003a).

A água reconstituída, após preparada, era aerada para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH durante pelo menos 12 horas antes da sua utilização.

Os organismos foram mantidos em lotes de até 25 adultos por litro, em recipiente de 2.000 mL, com luminosidade difusa (fotoperíodo de 16 h de luz) e temperatura de 18°C a 22°C. Estas condições foram obtidas através da utilização de uma incubadora de DBO modificada.

A água reconstituída do cultivo foi renovada três vezes por semana, evitando-se diferença de temperatura maior que 2°C. No manuseio do organismo utilizou-se pipeta de diâmetro adequado ao tamanho do mesmo, com borda arredondada. Lotes de organismos com idade superior a 60 dias eram descartados.

Como alimento utilizou-se a alga verde *Scenedesmus subspicatus* Chodat, 1942, fornecendo a quantia de aproximadamente 10<sup>6</sup> células.mL<sup>-1</sup> por organismo adulto, diariamente, ou com intervalo de no máximo dois dias consecutivos.

Para cultivo da alga, manteve-se uma cultura-estoque que serviu como inóculo. Ela foi mantida de 4°C a 10°C, em meio líquido, por no máximo um mês, para obtenção de células viáveis para semeadura.

Utilizou-se o meio de cultura algácea Chu (Chu, 1942), cujas soluções para preparo foram estocadas de 4°C a 10°C, por no máximo seis meses.

Após o preparo do meio de cultura procedia-se a agitação por 1 hora e esterilização em autoclave por 15 min a 121°C.

A inoculação das algas era realizada em meio asséptico de modo que se obtivesse aproximadamente 10<sup>7</sup> células.mL<sup>-1</sup> em um período de

aproximadamente sete dias. As culturas foram mantidas de 20°C a 30°C, sob iluminação constante e aeração.

Após atingir o crescimento adequado, as culturas eram centrifugadas para retirar o excesso do meio de cultura algáceo. O sobrenadante era descartado e a alga ressuspensa com a água reconstituída utilizada para o cultivo de *Daphnia magna* (meio M4). Este procedimento evita a introdução de nutrientes presentes no meio de cultura algáceo, que podem ser tóxicos aos organismos-teste.

### **4.3 Controle da sensibilidade dos organismos-teste**

Os organismos-teste *Daphnia magna* foram testados em nível de sensibilidade, mensalmente, visando assegurar a qualificação dos mesmos dentro dos padrões internacionais e garantir a validação dos testes realizados, conforme ISO 6341 (ISO, 1996). Para tal, realizaram-se testes de toxicidade aguda com a substância de referência dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), conforme descrito neste documento em 'Metodologia de Teste Agudo', item 4.4.

Desde o ano de 2000 a sensibilidade dos cultivos de *Daphnia magna* do LABTOX vem sendo avaliada (Moser *et al.*, 2004). Observou-se uma variação da Concentração Efetiva Inicial Mediana - CE50 24h (concentração da amostra que causa efeito agudo a 50% dos organismos em 24h) de 0,5 a 1,1 mg.L<sup>-1</sup> de dicromato de potássio.

Na presente pesquisa, consideraram-se aptos para utilização em testes, os neonatos produzidos em lotes de cultivo que apresentaram CE50 24h entre 0,6 e 1,7 mg.L<sup>-1</sup> de dicromato de potássio (ISO 6341) (ISO, 1996).

#### 4.4 Metodologia de teste agudo

A metodologia de teste agudo com o organismo-teste *Daphnia magna* também seguiu o descrito na NBR 12.713 (ABNT, 2003a).

As amostras coletadas foram testadas baseando-se na exposição de neonatos de *Daphnia magna*, de 2 a 26 horas de idade, em diluições da amostra, por um período de 48 horas.

A partir da amostra, no caso o percolado do aterro sanitário, para cada teste foram preparadas 5 diluições (solução-teste) e um controle. As diluições foram preparadas com precisão volumétrica, em progressão geométrica de razão 2.

No controle e como diluente foi usado água de diluição, também chamada meio ISO, descrito na norma ISO 6341 (ISO, 1996). Após o preparo, a água de diluição era aerada por , pelo menos, 12 horas para solubilização total dos sais, saturação do oxigênio dissolvido e estabilização do pH. Registravam-se os valores de oxigênio dissolvido, pH e dureza total antes da utilização da água de diluição.

No controle dos teste, a imobilidade aceita é de no máximo 5%.

Cada diluição foi colocada em 2 béqueres de 25 mL, com aproximadamente 25 mL de solução-teste em cada. Foram testados 20 organismos por diluição, sendo expostos 10 em cada béquer. Este esquema pode ser observado na figura 7.

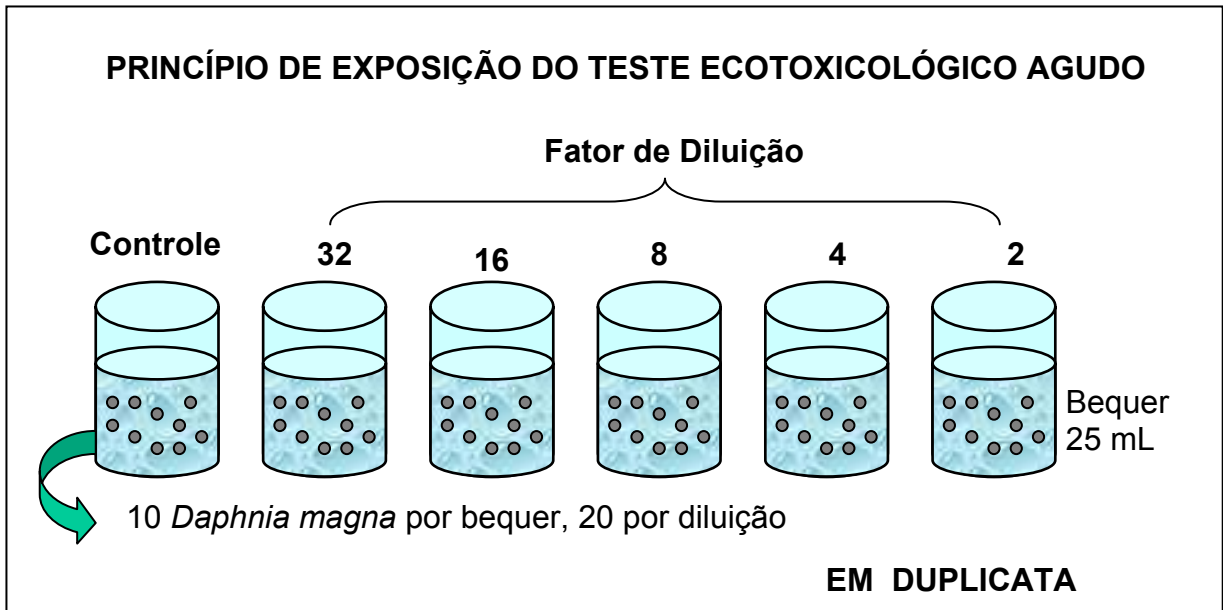


FIGURA 7: Esquema do teste de toxicidade aguda com *Daphnia magna*.

Adicionalmente, na figura 8 é possível visualizar a bancada laboratorial com a preparação de um teste agudo e a preparação das soluções-teste (diluições) com precisão volumétrica.



FIGURA 8: Preparação das soluções-teste com precisão volumétrica para um teste agudo.

Os organismos-teste foram adicionados aos béqueres, fazendo-se a distribuição sempre da menor para a maior concentração do agente tóxico,

iniciando pelo controle. Os frascos foram cobertos com filme de PVC e levados para a germinadora de teste. Durante o período de teste foram mantidos de 18°C a 22°C, sem alimentação ou iluminação.

Após o tempo de prova (48horas) observou-se o número de indivíduos imóveis por concentração e a partir destes dados, calculou-se a porcentagem de imobilidade por concentração. O resultado do teste é expresso em Concentração Efetiva Inicial Mediana - CE(I)50 48h, que corresponde à concentração da amostra no início do ensaio, que causa efeito agudo a 50% dos organismos expostos em 48horas, nas condições de teste.

A CE(I)50 48h foi calculada utilizando-se os métodos estatísticos Probit Method (Weber, 1993) para dados paramétricos e Trimmed Sperman-Karber Method (Hamilton *et al.*, 1977) para dados não paramétricos.

## **4.5 Metodologia de teste crônico**

### **4.5.1 Desenvolvimento do teste crônico**

Para realização dos testes, foram utilizados organismos jovens, com 2 a 26 horas de idade, obtidos a partir da quarta postura de fêmeas cultivadas. O método consiste na exposição dos organismos jovens da espécie *Daphnia magna*, a várias diluições da amostra por um período de 21 dias.

Cada ensaio foi realizado com 5 diluições da amostra, além do controle negativo (somente água reconstituída - meio M4). As diluições (soluções-teste) foram preparadas com precisão volumétrica, em progressão geométrica de razão 1,25. Para cada diluição, utilizaram-se 10 réplicas, dispendo individualmente 10 organismos jovens de *Daphnia magna* em béqueres de 50 mL. Cada béquer recebeu uma alíquota de 25ml da solução-teste e foi coberto com filme de PVC para evitar a evaporação e contaminação do teste com possíveis resíduos suspensos no ar. Este esquema pode ser observado na figura 9.

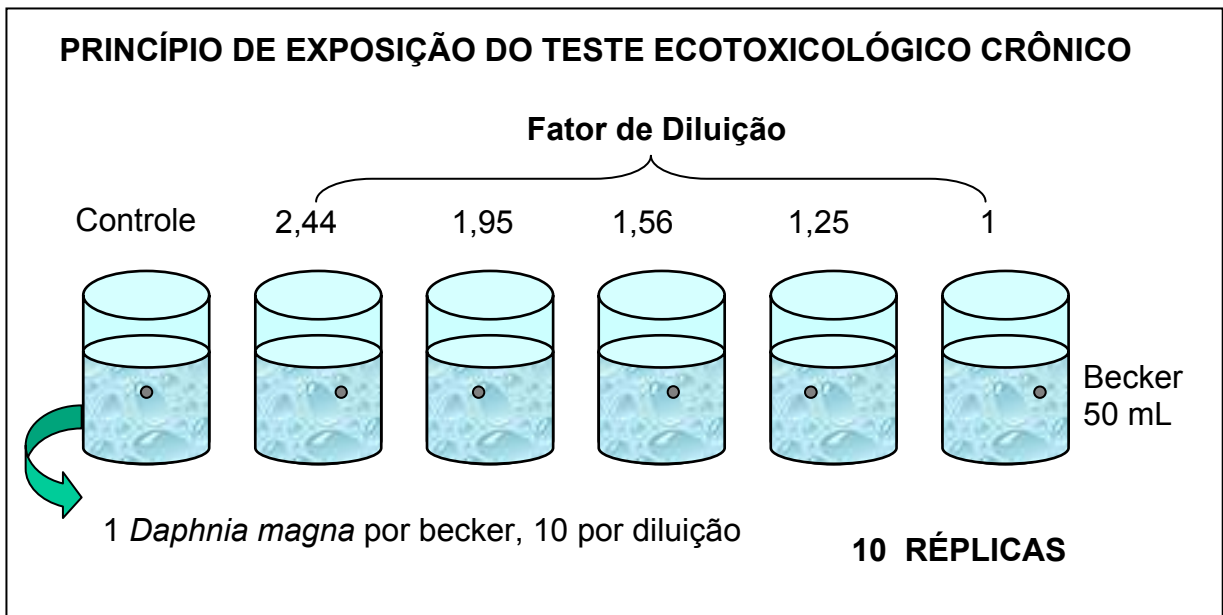


FIGURA 9: Esquema do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*.

Na figura 10 é possível visualizar a estrutura necessária para realização dos testes, bem como a dimensão real necessária para o desenvolvimento de um único teste. Na figura 11 visualizam-se as réplicas de uma única concentração, cada réplica com uma *Daphnia magna* exposta.



FIGURA 10: Teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna* realizado no Laboratório de Toxicologia Ambiental.



FIGURA 11: As 10 réplicas da solução-teste de 100% em um teste de toxicidade crônica.

No preparo do teste, utilizou-se água reconstituída como diluente (meio M4). As soluções-teste foram preparadas no momento da exposição do organismo, utilizando as devidas proporções de amostra e água reconstituída.

O organismo-teste foi exposto à solução-teste, sendo transferido de forma a evitar a alteração da concentração final da mesma. Para tal utilizou-se um coletor de microcrustáceo (artefato semelhante à pipeta volumétrica de 25mL, cortada na extremidade inferior) a fim de não causar dano ou estresse aos indivíduos. Teve-se o cuidado de liberar o organismo próximo da superfície da solução para evitar a entrada de ar sob sua carapaça e conseqüente flutuação.

Os testes foram mantidos nas mesmas condições ambientais que os lotes de cultivo, com luminosidade difusa (fotoperíodo de 16 horas de luz) e temperatura de 18°C a 22°C. Os organismos-teste receberam diariamente alimentação, sendo fornecido como alimento a alga clorofícea *Scenedesmus subspicatus*, em concentrações próximas a  $10^7$  células.mL<sup>-1</sup>, *ad libitum*.

Os organismos foram acompanhados durante o teste, na primeira semana com observações diárias e, após este período, com leituras três vezes por semana, em dias intercalados: segundas, quartas e sexta-feiras. Nestes momentos observavam-se sobrevivência e número de jovens gerados por fêmea.

Na leitura também substituía-se a solução-teste antiga (com 48h), caracterizando um teste semi-estático, tendo-se o cuidado de as soluções-teste estarem na temperatura de 18°C a 22°C no momento da transferência dos organismos. Em cada troca da solução-teste, retirou-se a daphnia adulta e as daphnias jovens do béquer. As daphnias adultas eram temporariamente colocadas em um recipiente livre de contaminação. A solução-teste contida no béquer era descartada, higienizava-se o béquer com água destilada e gase, e este recebia nova alíquota de solução-teste. Contavam-se e registravam-se as daphnias jovens, e transfería-se somente a daphnia adulta para o béquer. Este procedimento evitava que os metabólitos alterassem a qualidade do ambiente, mascarando os resultados ou a disputa por espaço e alimento. As daphnias jovens encontrados mortos ou imóveis não foram contabilizados.

A tabela abaixo (tabela 1) foi usada para registrar as observações realizadas ao longo do teste.



TABELA 1 – Protocolo para registro das observações em teste crônico com *Daphnia magna* Straus, 1820.

Amostra:	
OD:	pH:
Aspecto geral:	
Data da Coleta:	Responsável:
Data do início do Teste:	Responsável:
Lote utilizado:	Sensibilidade:

Dia	T	Número de Nascimento										Total de Jovens	Adultas Sobreviventes	
		Réplicas												
		C	1	2	3	4	5	6	7	8	9			10
0														
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														

Na tabela 1, a coloração diferenciada indica períodos distintos no ciclo reprodutivo da *Daphnia magna*. No período entre 0 e 5 dias os organismos-teste são filhotes. Do dia 6 ao dia 9, ocorre a preparação para reprodução, com formação dos primeiros ovos na câmara incubatória. Entre os dias 10 a 13, tem-se o ápice da reprodução. No período entre 14 a 17 dias a reprodução é boa, passando a irregular após o 18º dia de teste.

#### 4.5.2 Parâmetros analisados durante o teste crônico

Visando avaliar as amostras testadas, três parâmetros foram analisados na execução do teste: longevidade, crescimento e fecundidade.

Longevidade é o tempo de vida de um organismo sob determinado conjunto de condições de desenvolvimento (Fonseca, 1991). Nos experimentos, este parâmetro foi obtido pelo acompanhamento da sobrevivência dos organismos até o final do teste (21 dias), expressando o parâmetro em número de daphnias sobreviventes após 21 dias.

Crescimento se expressa fundamentalmente como a variação de uma dimensão do indivíduo, geralmente comprimento total ou peso, em função da idade (Margalef, 1977 *apud* Bohrer, 1995). Optou-se pela medição do comprimento dos organismos para avaliar este parâmetro. A medição do comprimento foi realizada ao final do teste (21 dias), usando uma lâmina com escala de 1 cm, milimetrada. Utilizou-se o microscópio ótico com aumento de 40 vezes para medição. Considerou-se o comprimento total do indivíduo o comprimento da cabeça até o final da carapaça, desconsiderando o espinho apical, conforme figura 12.

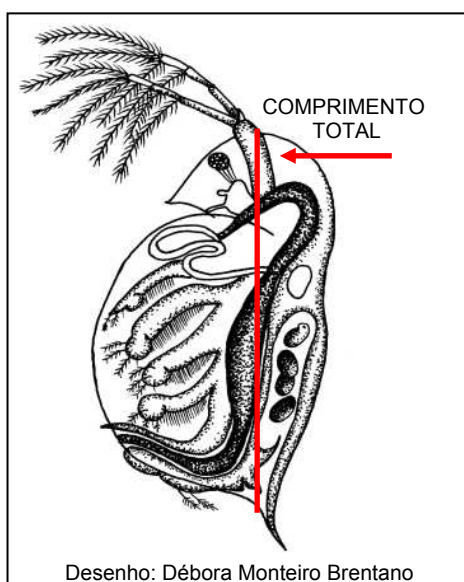


FIGURA 12: Medida do comprimento total de *Daphnia magna*. Medição realizada após 21 dias de teste.

Daphnias que morreram antes do final do teste também foram medidas, desde que a morte tivesse ocorrido após o 18º dia de teste. A medida de eventuais machos presentes nos testes não foram contabilizados para geração das médias de crescimento devido ao dimorfismo sexual.

A fecundidade foi avaliada pela contagem dos neonatos gerados pelas fêmeas no período de 21 dias. Como parâmetro foi utilizada a média de filhotes gerados por fêmea, considerando o número de posturas ao longo do teste. Esta média foi obtida através da seguinte equação:

$$\text{Média} = \frac{\text{nº total de filhotes}}{\text{nº de mães} \times \text{nº de posturas}}$$

Para cálculo desta média, no caso de haver morte de adultas, não considera-se esta mãe e exclui-se o número de filhotes que ela havia produzido até então. Mas esta subtração só é feita quando a fêmea morre antes do 18º dia de teste, pois, após este período, a reprodução é muito flutuante e a ausência de filhotes neste período não irá interferir nos dados levantados.

No caso de existir um macho entre os organismos-teste adultos que estão sendo testados, deve-se usá-lo como dado para avaliação da longevidade, mas não poderá entrar nos dados de crescimento e fecundidade.

Os resultado para longevidade, crescimento e fecundidade obtidos nas diferentes soluções-teste foram comparados aos resultados dos controles. Assim, pode-se encontrar a concentração de efeito não observado - CENO e a concentração de efeito observado - CEO. A CENO é definida como a maior concentração da amostra que não causa efeito estatisticamente significativo aos organismos quando comparado ao controle, nas condições de ensaio; e a CEO é definida como a menor concentração da amostra que causa efeito estatisticamente significativo nos organismos quando comparado ao controle, nas condições de ensaio (NBR 13.373, 2003). A CENO e a CEO foram expressas em porcentagem.

#### **4.5.3 Validação do teste crônico**

Para descobrir os critérios de validação do teste de toxicidade crônica, realizaram-se nove testes utilizando meio M4 como meio de cultivo. Observaram-se os seguintes critérios: longevidade, número de posturas, data da primeira postura e média de filhotes por fêmea, sendo este parâmetro avaliado com a utilização da fórmula citada no item 4.5.2. Os resultados destes parâmetros para os nove testes determinaram os padrões para considerar um teste válido.

Ainda, considerou-se a metodologia citada por Terra e Feiden (2003), Terra *et al.* (2003) e Terra *et al.* (2004), com adaptações baseadas nos resultados obtidos nos testes supracitados, realizados durante esta pesquisa.

#### **4.5.4 Análise estatística**

Visando comparar as médias de longevidade, crescimento e fecundidade geradas em cada diluição com as médias obtidas no controle de cada teste, utilizou-se a análise estatística de acordo com a recomendação da EPA 821-R-02-013 (EPA, 2002a) (Figura 13).

Sendo assim, utilizou-se os testes de Dunnett ou o teste t com ajuste de Bonferroni, através do programa computacional Dunnett Program versão 1.5 (EPA, 2005).

Ainda, para comparação de médias entre uma mesma concentração com dois tratamentos distintos, utilizou-se o teste t, através do programa computacional GaphPad InStat versão 3.0 (GraphPad Software, 2005). Para comparação de médias múltiplas utilizou-se ANOVA para dados paramétricos e o teste de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos, através do mesmo programa computacional. Trabalhou-se com 95% de significância.

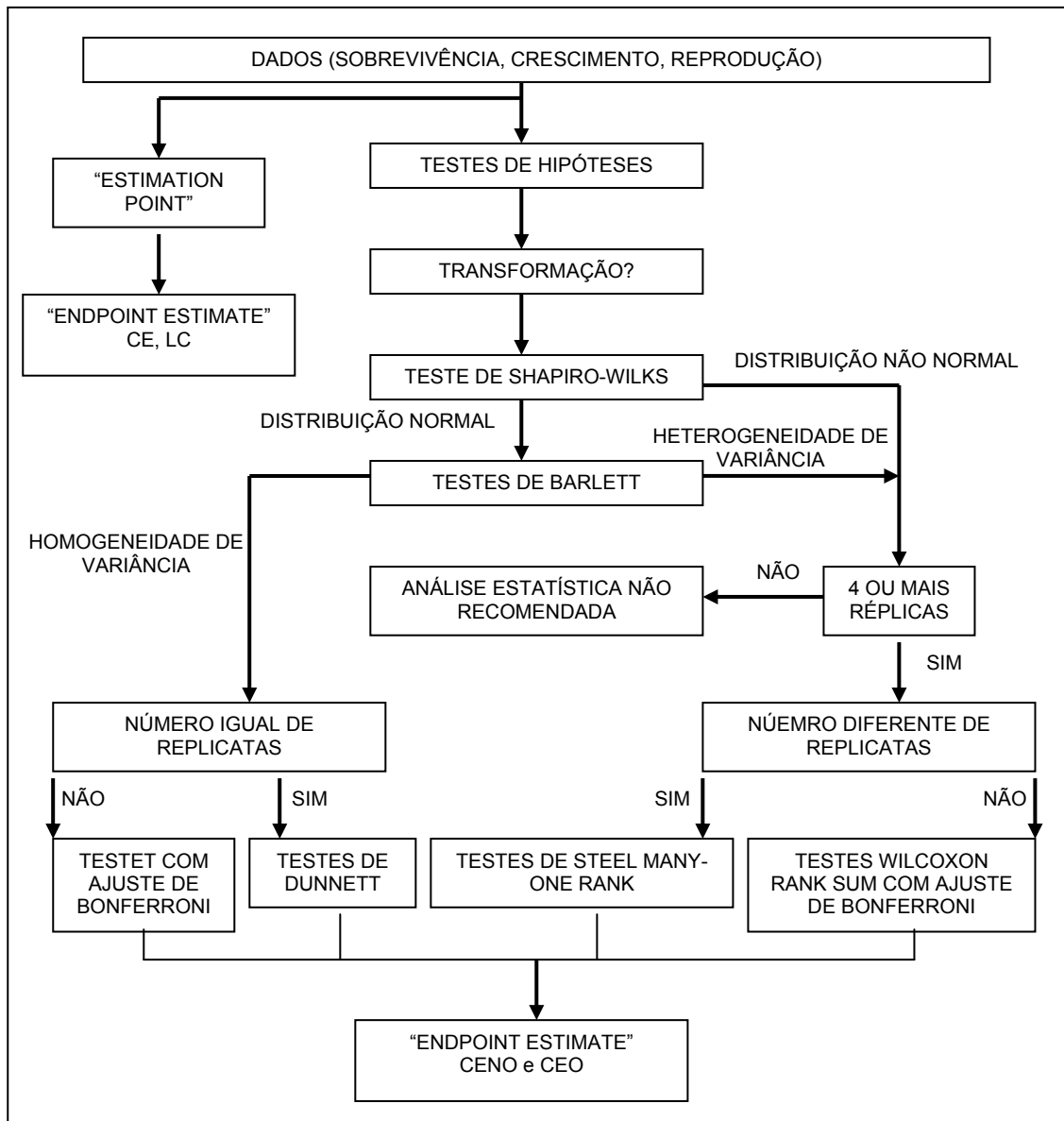


FIGURA 13: Fluxograma para análise estatística de dados.

Fonte: Adaptado de EPA (2002a).

#### 4.6 Metodologia de lavagem de material

A metodologia de lavagem do material seguiu o descrito na NBR 12.713 (ABNT, 2003a) e EPA 821-R-02-012 (EPA, 2002b) com algumas adaptações.

O material novo utilizado no cultivo ou no ensaio com os organismos foi lavado com solução de ácido nítrico 10% ou ácido clorídrico 10%, água de torneira e água processada.

A vidraria utilizada nos cultivos foi lavada apenas com água da torneira e água processada.

A vidraria que entrou em contato com as amostras foi lavada usando a seguinte sequência de procedimentos: molho em água de torneira por 15min, lavagem com detergente neutro, lavagem dupla com água de torneira, molho em solução de ácido nítrico 10% ou ácido clorídrico 10% por 24h, duplo enxágue com água de torneira e enxágue com água destilada.

Os equipamentos e câmaras de teste foram lavados com água destilada após a execução de cada teste.

#### **4.7 Coleta, armazenamento e preservação das amostras**

O desenho amostral desta pesquisa foi desenvolvido para realização de 4 baterias de testes: B1, B2, B3 e B4 (Figura 14).

Em todas as baterias os testes agudos precedem o teste crônico, isto porque objetivavam definir as diluições a serem usadas em tais testes.

A primeira bateria (B1) foi realizada com coleta de amostra do efluente tratado antes da cloração. Esta foi submetida a análises de pH, OD, temperatura e dureza. A amostra foi dividida em duas. Uma parte foi refrigerada e outra congelada em alíquotas. Executou-se teste agudo com esta amostra antes de preservá-la e 2 testes crônicos, testando cada uma das formas de preservação da amostra: refrigeração e congelamento.

A segunda e terceira baterias (B2 e B3) foram realizadas também com coleta da amostra do efluente tratado antes da cloração, em dois momentos de tempo diferentes. Tempo 1 correspondendo a B2 e tempo 2 correspondendo a B3. Avaliaram-se os seguintes parâmetros: pH, DQO, DBO, OD, turbidez, temperatura, dureza, Amônia, Nitrato, Nitrito, Alumínio, Ferro, Zinco, Sulfato, Fosfato, Silica, Manganês e Cobre. Os parâmetros pH, temperatura, OD e dureza foram avaliados pelo LABTOX, utilizando respectivamente potenciômetro, termômetro, oxímetro e método titulométrico para dureza conforme APHA *et al.* (1995). Os demais parâmetros analisados foram

monitorados pelo Laboratório de Análises Químicas do aterro sanitário, usando as metodologias descritas em APHA *et al.* (1995).

Esta amostra foi preservada por congelamento, em alíquotas. Para execução dos testes, a amostra foi descongelada e preparada através da cloração em bancada com  $2,3 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  de hipoclorito de sódio a 0,5%, visando simular a dosagem de cloro usada na ETE do aterro. Também foi preparada com  $23 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ , para simular uma concentração 10 vezes maior que aquela usada na ETE do aterro. A cloração da amostra foi realizada após o descongelamento da alíquota, antes da realização do teste agudo e a cada troca da solução-teste nos testes crônicos.

Realizaram-se três testes de toxicidade aguda e três testes de toxicidade crônica em cada bateria (B2 e B3): um com a amostra na forma como foi coletada, outro com a amostra sendo clorada em bancada na quantidade que se clora o efluente tratado no aterro sanitário antes do descarte ( $2,3 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  de NaClO a 0,5%) e o último com a amostra sendo clorada em proporções 10 vezes maiores que aquela cloração realizada no aterro sanitário ( $23 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$  de NaClO a 0,5%).

Finalmente, a quarta bateria (B4) consistiu de dois testes agudos e dois testes crônicos. Para execução dos testes crônico, a cada troca de solução-teste, coletou-se no aterro sanitário o efluente tratado antes da cloração e o efluente tratado depois da cloração. Como a troca da solução-teste é realizada 3 vezes por semana e o teste tem duração de 3 semanas, o número total de coletas de cada efluente foi 9. Assim, desenvolveu-se um teste de toxicidade crônica com o efluente tratado antes da cloração, coletado periodicamente; e outro com o efluente tratado após a cloração, também coletado periodicamente. A cada coleta mediu-se, antes da preparação da solução-teste, o pH e o OD da amostra. O teste agudo foi executado com cada um dos efluentes (efluente tratado antes da cloração e efluente tratado depois da cloração), mas somente com a primeira amostra da seqüência de 9 amostras coletadas.

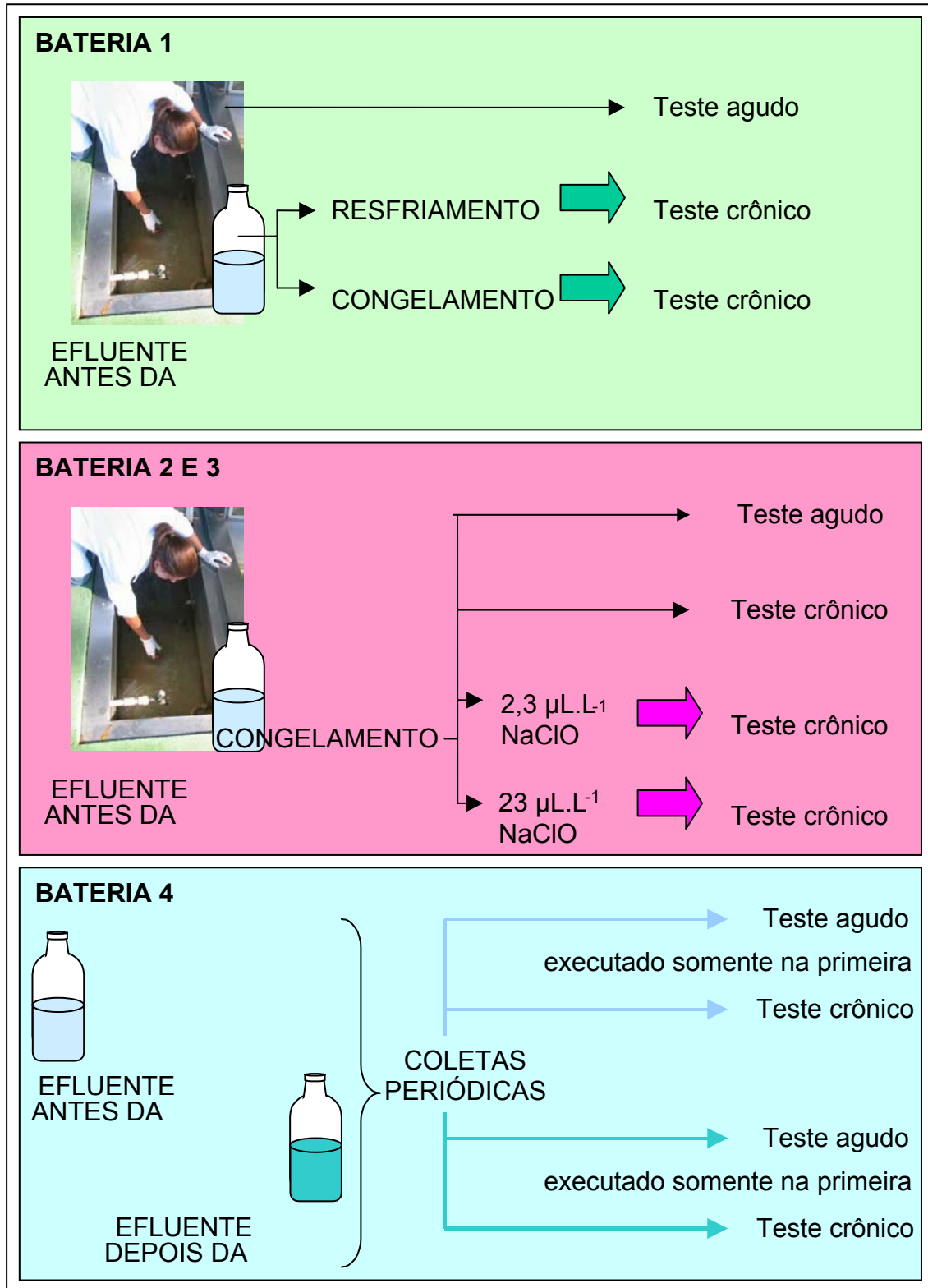


FIGURA 14: Desenho amostral. Discriminação dos procedimentos executados em cada bateria de teste.



Para a coleta e armazenamento da amostra foram utilizados vidros âmbar, visando a menor interferência no resultado dos ensaios. Durante a coleta, o frasco foi totalmente preenchido, para minimizar a presença de ar.

As amostras resfriadas foram mantidas em temperatura inferior a 10°C, por um período de no máximo 60 dias.

As amostras a serem congeladas foram preservadas em alíquotas logo após a coleta e mantidas abaixo de -18°C, sendo desta forma preservadas por no máximo 60 dias. Quando procedeu-se ao descongelamento, o mesmo foi completo, a temperatura ambiente, em água corrente ou outro mecanismo cuja temperatura não ultrapassasse 30°C. Após descongelamento, a amostra foi utilizada em até 12 horas, não voltando novamente ao congelamento para ensaios.

Já com as amostras coletadas para ensaio imediato, os testes de toxicidade aguda e/ou crônica foram iniciados o mais rápido possível, não excedendo 12 horas contadas a partir do início da coleta, sendo que a amostra permaneceu resfriada e ao abrigo da luz. Quando da impossibilidade do início do ensaio em 12 horas, a amostra foi mantida em temperatura inferior a 10°C, sem congelamento, sendo o ensaio iniciado em até 48 horas.

## **5. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Estabilidade dos organismos-teste**

O cultivo dos organismos-teste no período de execução desta pesquisa (janeiro de 2005 a outubro de 2005) foi realizado com sucesso, fato assegurado pelos resultados dos testes de sensibilidade desenvolvidos. A CE50 24h média para a substância de referência dicromato de potássio foi de  $0,76 \pm 0,17 \text{ mg.L}^{-1}$  para o período supracitado, o que assegura a credibilidade dos testes desenvolvidos pois a sensibilidade do cultivo esteve dentro do recomendado pelas normas internacionais (ISO 6341, 1996).

### **5.2 Definição da validade dos testes crônicos**

Nos 9 testes desenvolvidos com o meio de cultivo M4, 100% das daphnias tiveram longevidade de 21 dias. Em relação ao número de posturas, em 77,8% dos testes houve 4 posturas ao longo do período de 21 dias. A primeira postura ocorreu em 100% dos testes no 10º dia de exposição (tabela 2).

TABELA 2: Resultados dos testes desenvolvidos para determinação dos critérios de validade dos testes de toxicidade crônica com *Daphnia magna*.

Testes	Longevidade (dias)	Nº de posturas (em 21 dias)	Primeira postura
Teste 1	21	4	10º dia
Teste 2	21	4	10º dia
Teste 3	21	4	10º dia
Teste 4	21	4	10º dia
Teste 5	21	4	10º dia
Teste 6	21	2	10º dia
Teste 7	21	1	10º dia
Teste 8	21	4	10º dia
Teste 9	21	4	10º dia

Os dados citados por Rand (1995) contribuem para mostrar que os resultados aqui obtidos estão dentro do esperado para o ciclo de vida de *Daphnia magna*. O autor cita que daphnias tem o amadurecimento sexual entre o sexto e o décimo dia de vida e que o número de posturas esperado é de três a cinco.

Assim, definiu-se com base nos resultados obtidos nesta pesquisa e na revisão de Terra e Feiden (2003), Terra *et al.* (2003) e Terra *et al.* (2004), que para assegurar a validade do teste é necessário que o controle do mesmo apresente pelo menos 80% de sobrevivência das daphnias adultas, ou seja, 80% das daphnias com longevidade de 21 dias. É necessário também, no mínimo 4 posturas ao longo de 21 dias.

Ainda, de acordo com Terra e Feiden (2003), Terra *et al.* (2003) e Terra *et al.* (2004) a média de filhotes por fêmea, deve ser igual ou maior que 20 indivíduos, no final de 21 dias. Quando aplica-se a fórmula para descobrir a média de filhotes por fêmea nos testes desenvolvidos, considerando-se 4 ninhadas, obtém-se a média de 20 filhotes por fêmea, ou mais, em 55,6% dos testes realizados, conforme pode-se visualizar na figura 15. Desta forma, optou-se manter o critério, já citado por outros autores, de 20 filhotes por mãe como a média no controle para validação do teste.

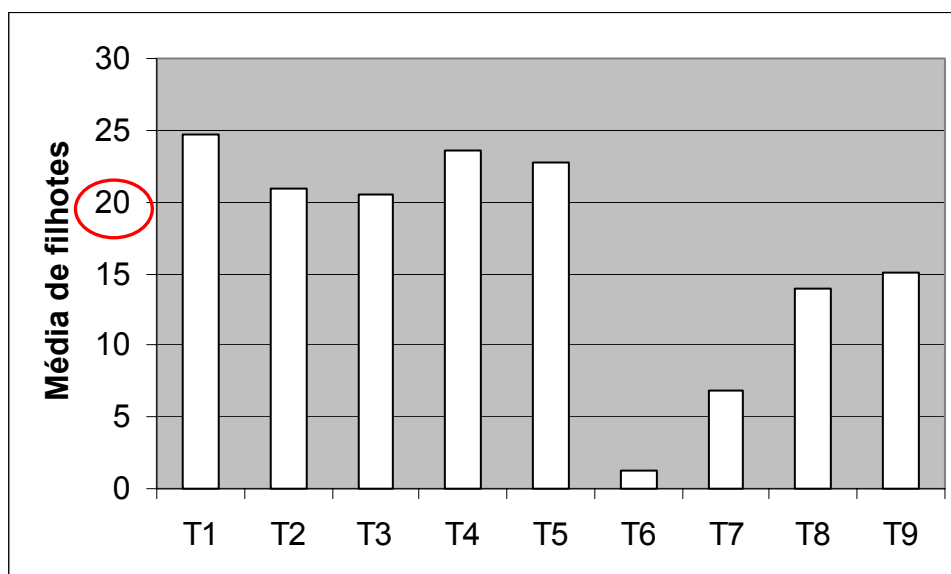


FIGURA 15: Número médio de filhotes por fêmea obtidos nos 9 testes realizados. O valor circulado em vermelho corresponde ao valor mínimo de filhotes produzidos por fêmea para validação de um teste.

Sintetizando, para esta pesquisa, um teste de toxicidade crônico válido, deverá apresentar ao final de 21 dias, no controle, no mínimo, 80% de sobrevivência; 4 posturas; e uma média de 20 filhotes por fêmea, considerando neste cálculo o número de posturas.

Observou-se que ao relacionar a média de filhotes obtidas em cada um dos 9 testes à sensibilidade ao dicromato de potássio, obtém-se um coeficiente de correlação linear considerado não significativo ( $r=0,6$ ).

Desta forma não pode-se atribuir a flutuabilidade da reprodução à sensibilidade das daphnias usadas para realização dos testes. Contudo, convém montar baterias de testes com organismos que tenham a mesma sensibilidade, visando facilitar a comparação e eliminar uma possível variável.

### 5.3 Comparação entre amostra refrigerada e congelada

#### 5.3.1 Parâmetros físico e químico

Para execução da primeira bateria de testes, realizou-se, logo após a coleta do percolado de aterro sanitário não clorado, a medição das

características físicas e químicas. Os parâmetros levantados encontram-se na tabela 3.

TABELA 3: Resultado dos parâmetros físicos e químicos da amostra da bateria 1 (B1).

Parâmetros	Dureza (mg.L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub> )	OD (mg.L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> )	pH	Temperatura (°C)
Amostra B1	32	6,9	6,94	23

### 5.3.2 Toxicidade aguda

O teste de toxicidade aguda revelou ausência de toxicidade aguda para o percolado de aterro sanitário tratado não clorado. Este percolado já foi avaliado por Finkler (2002) através de testes agudos com *Daphnia magna*. Os resultados indicaram elevado potencial tóxico agudo para o percolado bruto (CE(I)<sub>50</sub>48h=6,162,5%C.V.=0,5), enquanto que o percolado tratado não clorado não apresentou toxicidade aguda. Este dado corrobora o resultado desta pesquisa.

Ainda, Guimarães (2005) realizou um estudo *in situ*, utilizando um tanque de inox instalado na saída do sistema de tratamento do percolado do aterro sanitário, antes da cloração. Neste ponto, foram expostos peixes da espécie *Geophagus brasiliensis* em um sistema de fluxo contínuo, durante 4 meses para realização do teste. Neste ensaio, também não observou-se efeitos de toxicidade aguda para os peixes.

### 5.3.3 Toxicidade crônica

Diante da ausência de toxicidade aguda na amostra, para a execução dos testes crônicos decidiu-se trabalhar com as diluições de 100%, 80%, 64%, 51,2% e 40,96%, ou seja uma razão de 1,25.

Salienta-se que o objetivo desta primeira bateria de testes foi verificar se a forma de armazenamento modificaria o resultado do teste de toxicidade crônica em função de uma possível modificação química da amostra ao longo dos 21 dias.

A sensibilidade de *Daphnia magna* expostas a bateria 1 foi de 0,84 mg.L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

### 5.3.3.1 Longevidade

A longevidade dos organismos-teste expostos às amostras, tanto congelada quanto refrigerada, foi de 21 dias, não havendo diferença quanto a este parâmetro (Figura 16)

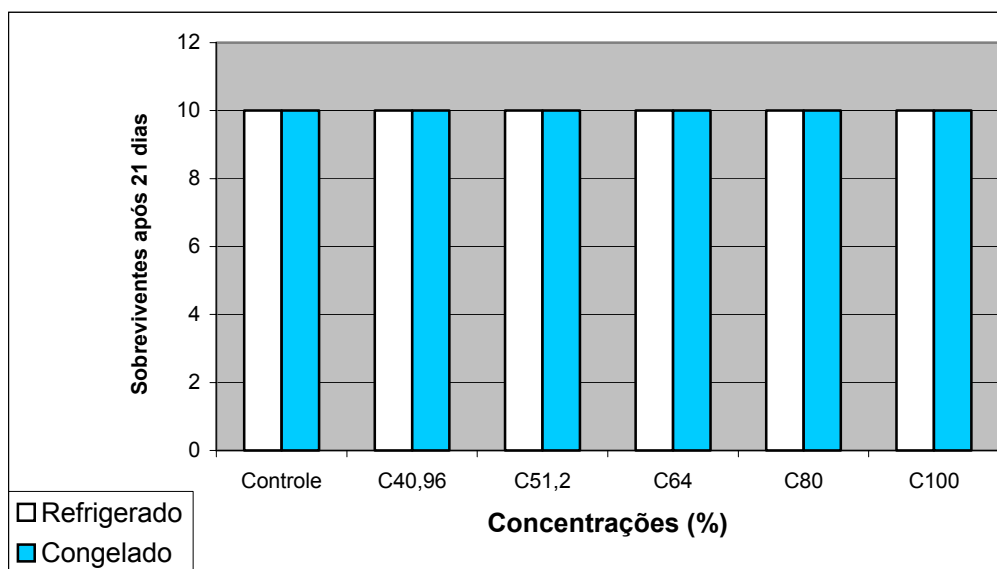


FIGURA 16: Número de *Daphnia magna* adultas sobreviventes expostas ao percolato tratado refrigerado e congelado.

### 5.3.3.2 Crescimento

Os organismos-teste, nos controles, atingiram o tamanho de 4,15 mm em ambos os testes. Também em ambos os testes, em todas as diluições usadas, tanto para o efluente congelado quanto refrigerado, o crescimento das

daphnias foi inferior ao controle, exceto na diluição 40,96%, na qual observa-se um crescimento ligeiramente superior em ambas as amostras (refrigerada e congelada) e na concentração 100% da amostra refrigerada.

Na figura 17 é possível visualizar a média do tamanho para cada diluição, em ambos os testes realizados, e comparar o crescimento das daphnias expostas à amostra congelada e refrigerada. Percebe-se que as daphnias expostas à amostra refrigerada tiveram um crescimento ligeiramente superior àquelas expostas ao efluente congelado.

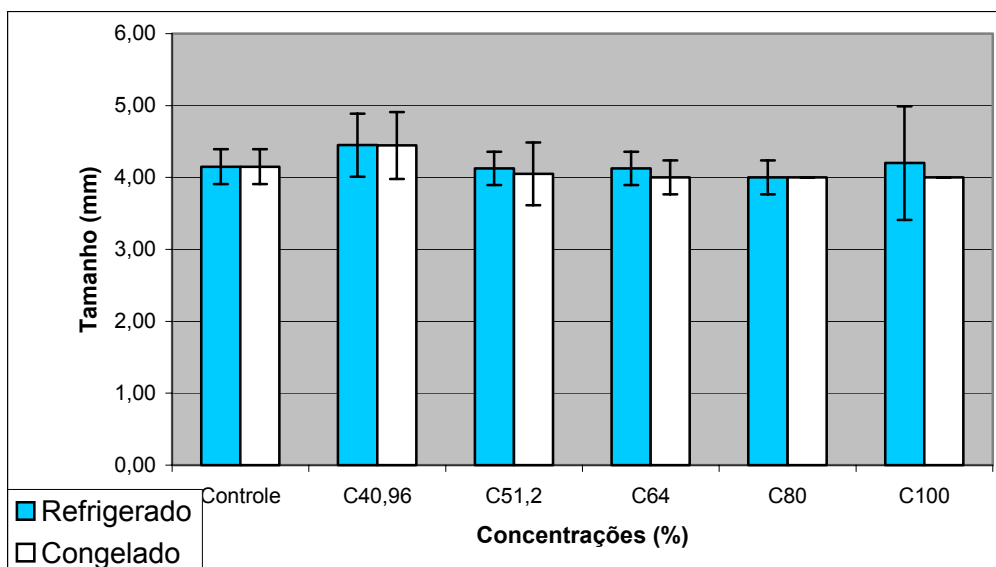


FIGURA 17: Comparação entre o tamanho de *Daphnia magna* após 21 dias expostas ao percolado de aterro sanitário tratado sem cloração, mantido sob refrigeração e congelamento.

Apesar das diferenças visualmente observadas, a análise estatística revela que não há diferença significativa entre as diferentes diluições e o controle em ambos os casos (amostra refrigerada e congelada). Tão pouco há diferença significativa entre a amostra conservada sob refrigeração e aquela congelada em cada uma das diluições testadas.

### 5.3.3.3 Fecundidade

De acordo com os critérios de validade pré-estabelecidos, este é um teste considerado não válido, uma vez que as médias obtidas nos controles foram inferiores a 20 filhotes por fêmea. A média encontrada foi de 15,1.

Contudo, como esta bateria objetivava apenas definir a forma de armazenamento do efluente a ser testado, os dados gerados foram utilizados para testar a hipótese proposta.

Para o efluente refrigerado, observou-se que não existe diferença significativa entre a reprodução no controle e nas diferentes concentrações testadas. Já para o efluente mantido congelado, observou-se que a partir da diluição 51,2% os dados de reprodução são significativamente menores que àqueles do controle (Figura 18).

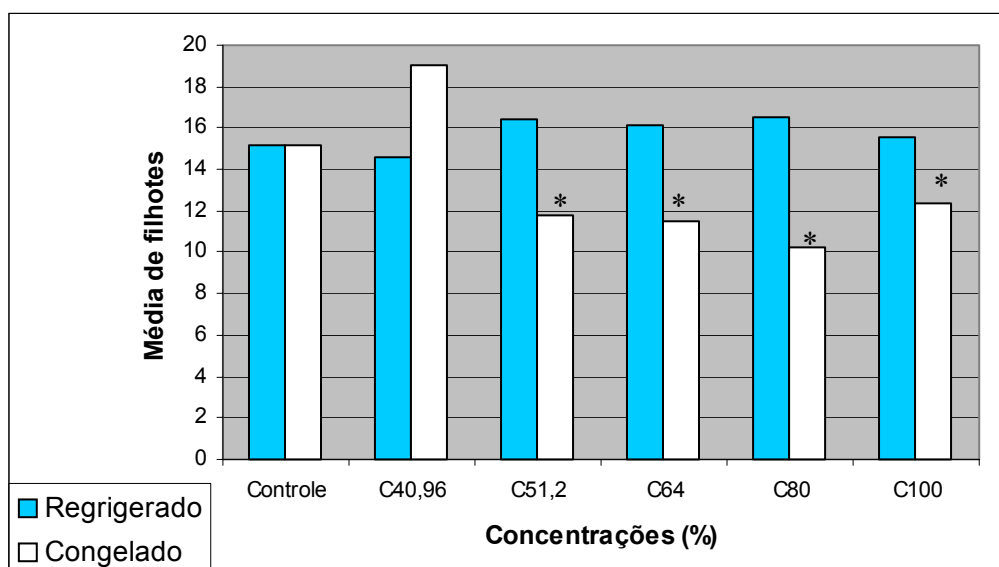


FIGURA 18: Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por *Daphnia magna* quando expostas ao percolato tratado refrigerado e congelado com seus respectivos controles.

Ainda, observa-se diferença significativamente maior na média de filhotes produzidos por *Daphnia magna* entre o efluente refrigerado e



congelado nas diluições de 100% ( $P=0,036$ ), 80% ( $P=0,0001$ ), 64% ( $P=0,005$ ) e 51,2% ( $P=0,0064$ ) (Figura 19).

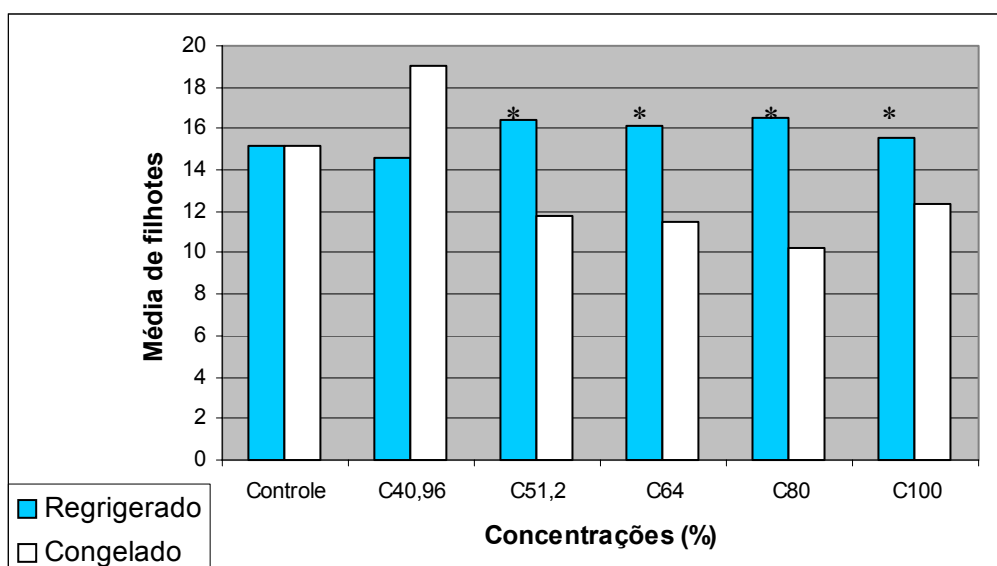


FIGURA 19: Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por *Daphnia magna* quando expostas ao percolato tratado refrigerado e congelado.

Diante destas evidências, considerando que as duas amostras eram idênticas (diferindo apenas na forma de conservação), e os testes foram realizados simultaneamente com daphnias de mesma sensibilidade, o fato de observar-se maior efeito negativo sobre a reprodução no efluente mantido congelado, provavelmente, deve-se ao fato de que algumas substâncias potencialmente tóxicas foram preservadas durante o congelamento e degradadas quando a amostra foi mantida apenas sob refrigeração.

Apesar de os parâmetros longevidade e crescimento não apresentarem diferenças significativas entre o efluente mantido refrigerado e congelado, o parâmetro de fecundidade é muito claro. Assim, nos testes subsequentes optou-se por trabalhar com a amostra congelada em alíquotas, visando preservar da melhor maneira o material coletado.

## 5.4 Comparação entre percolado tratado clorado e não clorado

### 5.4.1 Parâmetros físicos e químicos

Os parâmetros físicos e químicos das amostras testadas nas baterias 2 e 3 (B2 e B3) encontram-se na tabela 4.

TABELA 4: Resultado dos parâmetros físicos e químicos das amostras das baterias de teste 2 e 3 (B2 e B3).

Parâmetro	Unidade	Amostra B2	Amostra B3
Alumínio	mg/L Al	0,11	0,17
Amônia	mg/L N-NH <sub>3</sub>	4,29	1,92
Cobre	mg/L Cu	ND	0,31
DBO	mg/L	26,4	21,40
DQO	mg/L	66,24	62,31
Dureza	mg.L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	50	80
Ferro	mg/L Fe	0,29	0,72
Fosfato	mg/L	ND	0,28
Manganês	mg/L Mn	0,28	0,20
Nitrato	mg/L	0,15	0,12
Nitrito	mg/L	0,05	0,04
OD	mg.L <sup>-1</sup> O <sub>2</sub>	5,2	5,4
PH		7,52	7,36
Silica	mg/L	1,83	1,12
Sulfeto	mg/L	ND	ND
Temperatura	°C	22	21
Turbidez	UH	19,92	29,94
Zinco	mg/L Zn	ND	ND

Observou-se pouca variação nos parâmetros físicos e químicos analisados nestes dois momentos distintos, com excessão para o parâmetro

amônia, 2 vezes maior na amostra B2 que em B3; e turbidez, 1,5 vezes maior na amostra B3 que em B2. Este fato sugere que o percolado tratado é um efluente com pouca variação em termos dos parâmetros físicos e químicos analisados.

#### **5.4.2 Toxicidade Aguda**

O teste de toxicidade aguda realizado com o percolado tratado não clorado das amostras B2 e B3, como esperado, revelou que as mesmas não apresentam toxicidade.

Adicionalmente, realizaram-se testes de toxicidade aguda com as amostras B2 e B3 após serem cloradas em bancada, e atingirem as concentrações de 2,3 e 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de hipoclorito de sódio a 0,5%. Estes testes também não apresentaram toxicidade aguda para *Daphnia magna*, em 48h.

#### **5.4.3 Toxicidade Crônica**

Diante da ausência de toxicidade aguda na amostra B2 e B3, mesmo após a cloração, para a execução dos testes crônicos decidiu-se trabalhar com as diluições de 100%, 80%, 64%, 51,2% e 40,96%.

Conforme citado na metodologia, as amostras foram congeladas em alíquotas e descongeladas no momento de cada troca do teste crônico, quando foram cloradas, se este fosse o caso.

A sensibilidade das daphnias expostas a bateria 2 era de 0,77  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  e da bateria 3 era de 0,70  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

### 5.4.3.1 Toxicidade Crônica - Bateria 2 (B2)

#### 5.4.3.1.1 Longevidade

A longevidade de *Daphnia magna* expostas a bateria 2 variou de 17 a 21 dias. Para o efluente tratado, na diluição 100%, registra-se uma morte após 17 dias de exposição.

Analisando o efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  observou-se longevidade de 21 dias. Uma ressalva importante é que esta amostra, por problemas operacionais, foi testada apenas na concentração de 100%.

E, por último, para o percolado tratado com cloração na concentração de  $23\mu\text{L.L}^{-1}$ , observou-se uma morte na diluição 40,96%, no 17º dia.

Contudo, estas mortes que ocorreram não são significativas e na figura 20 pode-se observar visualmente estes resultados .

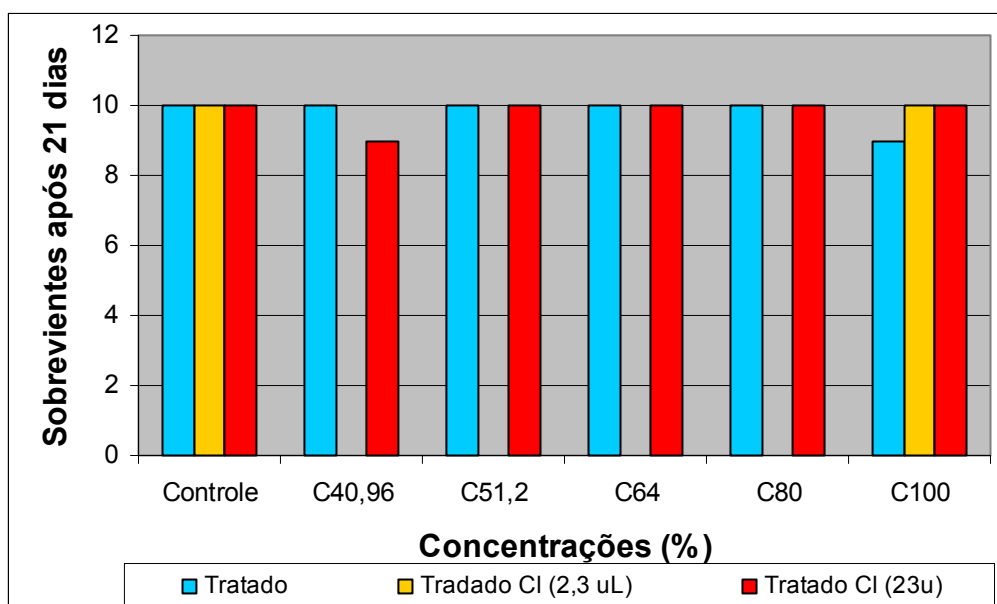


FIGURA 20: Número de *Daphnia magna* adultas sobreviventes expostas percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  e percolado tratado com cloração na concentração de  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  (B2).

### 5.4.3.1.2 Crescimento

Comparando o crescimento do organismo-teste *Daphnia magna* quando exposto ao efluente tratado, efluente tratado com cloração na concentração de 2,3  $\mu\text{L.L}^{-1}$  e efluente tratado com cloração na concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$  com seus respectivos controles observa-se que em todas as concentrações testadas o crescimento foi inferior ao controle.

Esta diferença é significativamente menor nas diluições 40,96; 51,2 e 80% para o efluente tratado. Na exposição ao efluente tratado com cloração na concentração de 2,3  $\mu\text{L.L}^{-1}$  não há diferença significativa. Já na exposição ao efluente tratado com cloração na concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$  há diferença significativamente menor no crescimento das daphnias expostas a concentração de 80% (Figura 21).

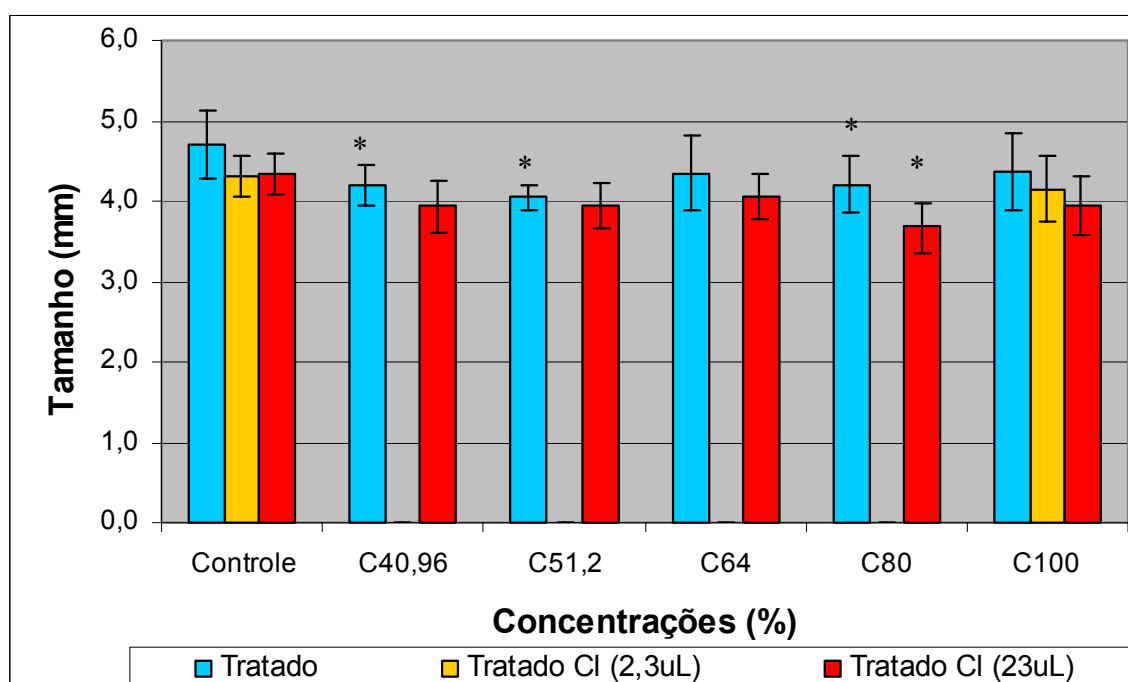


FIGURA 21: Comparação do tamanho de *Daphnia magna* após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e percolado tratado com cloração (concentrações de 2,3 e 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (B2).

Outra constatação é que apesar de em todas as concentrações o crescimento dos organismos expostos ao efluente tratado clorado (23  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) ser menor que o dos organismos expostos ao efluente tratado, esta diferença

não é significativa e de certa forma proporcional ao crescimento comparativo nos controles.

#### **5.4.3.1.3 Fecundidade**

Na bateria 2 observou-se que quando se expôs o organismo-teste *Daphnia magna* ao percolado tratado, a média de filhotes produzidos por fêmeas em todas as diluições não diferiu significativamente do controle.

O teste crônico desenvolvido com o percolado tratado clorado a uma concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ , revelou um resultado interessante. Nenhum dos organismos expostos a diluição testada (100%) reproduziu. Rand (1995) descreve que a adolescência de daphnídeos caracteriza-se como o período em que os primeiros ovos são completamente desenvolvidos no ovário. Os ovos são geralmente depositados na câmara incubatória minutos depois da muda e os jovens só serão liberados na próxima muda.

Desta forma, pode-se concluir que quando expostas à diluição de 100% do efluente tratado clorado a uma concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$  as daphnias não reproduzem devido a (i) problemas no desenvolvimento do ovário, ou (ii) são machos, (iii) ou têm problemas nas mudas das carapaças. Esta última alternativa (iii) não se confirma, pois observou-se crescimento dos organismos expostos. Também não se confirma a possibilidade de serem todos os organismos machos (ii), pois em observação ao microscópio ótico, pela anatomia do organismo, descartou-se esta possibilidade. Portanto, a alternativa mais plausível é o não desenvolvimento dos ovários das daphnias expostas, que, assim, não atingiram a maturidade sexual (i).

Já, no desenvolvimento do teste crônico em que se expôs o organismo-teste ao efluente tratado clorado a uma concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ , a média de filhotes produzidos por fêmeas em todas as concentrações foi significativamente menor que no controle, conforme pode-se observar no figura 22.

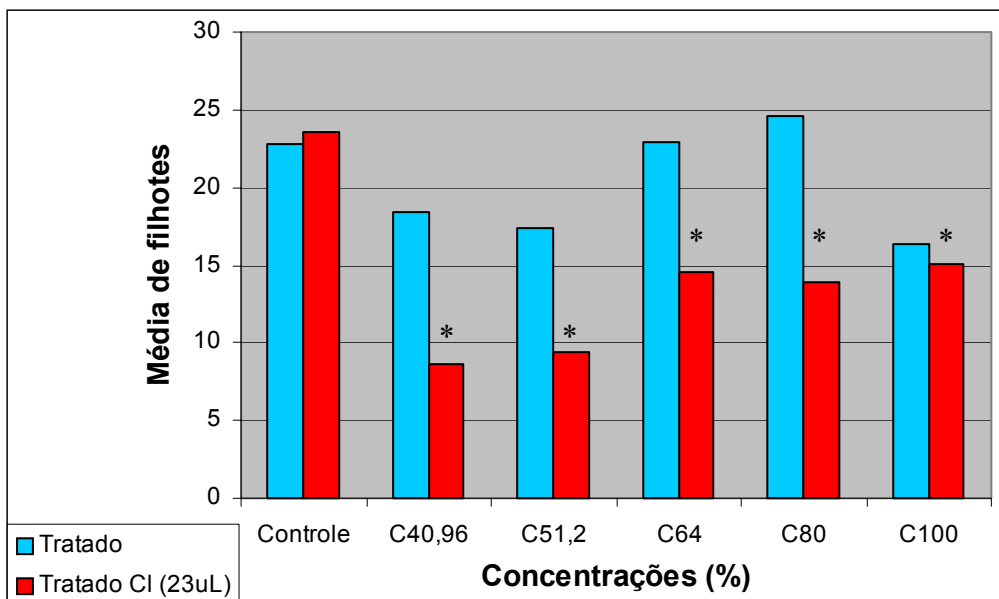


FIGURA 22: Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por *Daphnia magna* quando expostas ao percolado tratado e percolado tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$  (B2).

Considerando os três parâmetros utilizados para avaliação da toxicidade crônica: longevidade, crescimento e fecundidade, observa-se que na bateria 2 para o efluente tratado a CEO seria 40,96%, em função do parâmetro crescimento. Porém, este efeito de toxicidade crônica parece questionável, uma vez que não foi linear, ou seja, ocorreu em diluições alternadas e, ainda, ocorreu nas concentrações mais baixas testadas (40,96 e 51,2%) além da concentração de 80%. Por este motivo, descarta-se a indicação deste parâmetro e considera-se os resultados de longevidade e fecundidade, que revelam CENO=100%, ou seja, considera-se que o efluente tratado não produz toxicidade crônica em *Daphnia magna*, nas condições de teste.

Para o efluente tratado clorado a uma concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ , novamente considerando os três parâmetros avaliados, pode-se afirmar que a CEO é 100%, devido aos resultados de reprodução observados.

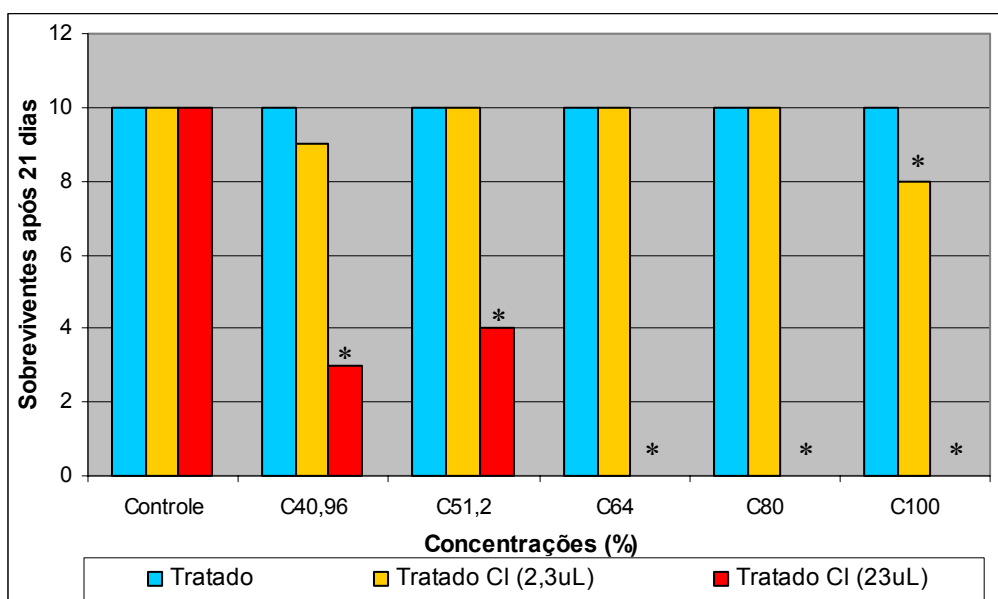
Finalmente, o efluente tratado clorado a uma concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$  apresentou CEO=40,96% e a CENO não foi possível determinar pois encontra-se abaixo da última diluição testada.

### 5.4.3.2 Toxicidade Crônica - Bateria 3 (B3)

#### 5.4.3.2.1 Longevidade

A longevidade das daphnias expostas a bateria 3 variou de 9 a 21 dias. Para o efluente tratado em todas as concentrações registrou-se longevidade de 21 dias. Já o efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$ , na diluição 100% teve 20% das daphnias com longevidade de 17 dias e na diluição 40,96% observou-se uma morte no 14º dia de exposição. O efluente tratado com cloração na concentração de  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  apresentou nas diluições 100%, 80% e 64% longevidade de 20 dias para 100% das daphnias expostas. Na diluição 51,2%, 60% das daphnias apresentaram longevidade de 20 dias, enquanto que na diluição 40,96%, 70% das daphnias apresentaram esta mesma longevidade (Figura 23).

FIGURA 23: Número de *Daphnia magna* adultas sobreviventes expostas ao



percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  e percolado tratado com cloração na concentração de  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  (B3).

Assim, a longevidade das daphnias expostas a concentração 100% do efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  é



significativamente menor que no controle. Já no caso do efluente tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ , observou-se que a longevidade é significativamente menor em todas as concentrações quando comparadas ao controle.

#### 5.4.3.2.2. Crescimento

Em relação ao crescimento, observa-se na bateria 3 que para o efluente tratado não clorado, efluente tratado com cloração a concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$  e efluente tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ , a média do crescimento teve uma variação muito pequena entre as diferentes diluições testadas, sendo esta não significativa para os três tratamentos testados (Figura 24).

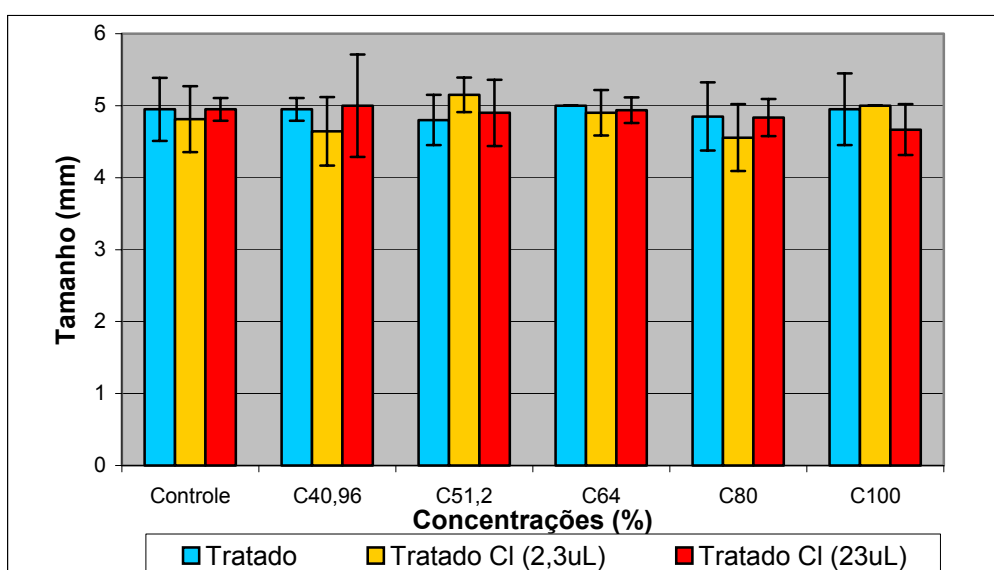


FIGURA 24: Comparação do tamanho de *Daphnia magna* após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e percolado tratado com cloração (concentrações de  $2,3$  e  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) (B3).

### 5.4.3.2.3 Fecundidade

Observou-se na bateria 3, que para os três testes crônicos desenvolvidos: efluente tratado, efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$  e efluente tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ , não há diferença significativa entre a média de filhotes obtida no controle e nas diferentes concentrações testadas (Figura 25).

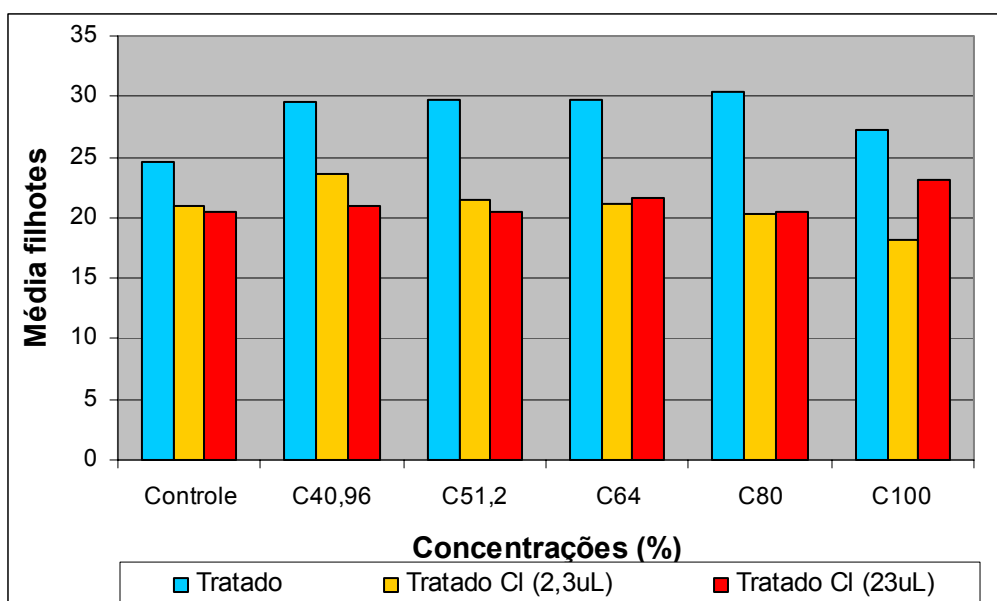


FIGURA 25: Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por *Daphnia magna* quando expostas ao percolado tratado, percolado tratado com cloração na concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$  e percolado tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ (B3).

Contudo, o resultado para o parâmetro fecundidade não devem encobrir o real efeito da amostra sobre os organismos-teste. A realidade é que, de acordo com os resultados do parâmetro longevidade, os organismos expostos às amostras de efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$  e efluente tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$  estavam na iminência de morte. Como uma estratégia de manutenção da população pode ocorrer uma produção maior de filhotes, que compense a perturbação ambiental sentida pelos progenitores.

Este fenômeno, supostamente ocorrido nesta bateria de testes, já havia sido apontado por Finkler (2002). Finkler (2002), em um teste de reprodução com *Daphnia magna* utilizando percolado tratado sem cloração como amostra, observou diferenças significativas em relação ao controle quanto aos parâmetros: nº de filhotes na primeira progênie, nº de progênies, nº de filhotes e tamanho corpóreo. Os resultados indicaram um incremento na reprodução e conseqüente redução da longevidade e tamanho corpóreo. Estes dados corroboram o que observou-se nesta bateria de testes: uma menor longevidade esteve associada a um incremento reprodutivo.

Contudo, este incremento reprodutivo não é eficaz na manutenção da população. Finkler (2002) observou que, quando os filhotes de *Daphnia magna* que tiveram a longevidade diminuída e a taxa de reprodução aumentada (F1) são submetidas a mesma contaminação dos progenitores, não há um restabelecimento na integridade reprodutiva da população.

Assim, considerando os três parâmetros avaliados: longevidade, crescimento e fecundidade, na bateria 3, o efluente tratado apresentou CENO=100%, não havendo efeito crônico mesmo quando o organismo é exposto a maior diluição testada.

Já o efluente tratado com cloração na concentração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ , apresenta efeito crônico a *Daphnia magna* na diluição 100% (CEO=100%) e este efeito deixa de existir na diluição 80% (CENO=80%).

Por último, o efluente tratado com cloração na concentração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$  apresenta efeito crônico desde a mais baixa concentração do agente tóxico testada, assim, a CEO é 40,96%.

Comparando as duas baterias de teste (B2 e B3), pode-se afirmar que apesar da baixa variabilidade dos parâmetros físicos e químicos observados, há variações intrínsecas às amostras que produziram efeitos crônicos distintos nos organismos-teste expostos às baterias B2 e B3.

Há concordância sobre o efeito produzido pelo efluente tratado nas duas baterias de teste. Ele apresenta CENO de 100%, não produzindo efeito crônico sobre às daphnias expostas. A única diferença observada é que, o percolado tratado na bateria 2, produziu alguma alteração no crescimento das daphnias, o

que seria um efeito crônico, mas este foi desprezado pelos argumentos anteriormente descritos.

Em relação ao efluente tratado com cloração na concentração de 2,3  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , observou-se efeito crônico sobre a fecundidade à exposição de 100% (CEO=100%). Na bateria 3, os resultados também comprovam efeito crônico. Apesar de não observar-se efeito sobre a fecundidade, o efeito sobre a longevidade ocorreu. Na concentração de 100% a longevidade foi significativamente menor que no controle (CEO=100% e CENO=80%).

Quanto ao efluente tratado com cloração na concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , pode-se afirmar que em ambas as baterias o efeito crônico foi expressivo, porém ocorreu de forma distinta em cada uma delas. Na bateria 2, observou-se efeito somente sobre a fecundidade, e este efeito começa a aparecer já na concentração 40,96% (CEO=40,96%). Na bateria 3, apesar de não observar-se alterações na reprodução, observa-se alterações na longevidade e, esta alteração, também inicia a partir da concentração de 40,96% (CEO=40,96%). Ou seja, quando o percolado tratado é clorado com a concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$  observam-se efeitos crônicos a partir da concentração mais baixa testada.

## **5.5 Comparação entre percolado tratado clorado e não clorado coletado periodicamente**

### **5.5.1 Parâmetros físicos e químicos**

Como a estratégia para execução desta 4ª bateria foi a coleta periódica, realizada a cada troca de solução-teste do teste crônico, a cada coleta mediu-se o pH e o OD da amostra. No total foram realizadas 9 coletas. Os resultados de pH e o OD das amostras coletadas ao longo do desenvolvimento do teste, encontram-se na tabela 5.

TABELA 5: Resultado dos parâmetros físicos e químicos da amostra da bateria 4 (B4).

Coletas	Percolado tratado não clorado		Percolado tratado clorado	
	pH	OD (mg.L <sup>-1</sup> )	pH	OD (mg.L <sup>-1</sup> )
1	7,55	7,00	7,84	6,95
2	7,44	6,50	7,84	6,85
3	7,66	6,80	7,89	6,80
4	7,81	7,15	7,61	6,65
5	7,53	6,65	7,66	6,40
6	7,52	7,05	7,42	6,40
7	7,33	6,85	7,33	6,90
8	7,07	5,70	7,16	5,95
9	7,60	7,99	7,24	6,05

Estes parâmetros tiveram pouca variação e apresentaram valores que permitem a execução de um teste de toxicidade.

### 5.5.2 Toxicidade Aguda

O teste agudo foi executado somente com a primeira amostra coletada para cada um dos processos (percolado tratado antes da cloração e percolado tratado depois da cloração) e não apresentou toxicidade aguda nas condições de teste para nenhuma das amostras.

### 5.5.3 Toxicidade Crônica

Diante da ausência de toxicidade aguda nas amostras de B4, novamente, decidiu-se trabalhar com as concentrações de 100%, 80%, 64%, 51,2% e 40,96% para a execução dos testes crônicos.

A sensibilidade das daphnias expostas à bateria 4 era de 0,6 mg.L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

### 5.5.3.1 Longevidade

A longevidade dos organismos-teste expostos ao percolado tratado foi de 21 dias em todas as diluições testadas. Contudo, para o percolado clorado, tem-se diferença significativa na sobrevivência das daphnias em todas as diluições. Na diluição de 40,96% observou-se longevidade de apenas 6 dias para 70% das daphnias expostas. Já nas demais diluições a longevidade máxima foi de 6 dias, ou seja, 100% das daphnias morreram até o 6º dia de exposição (Figura 26).

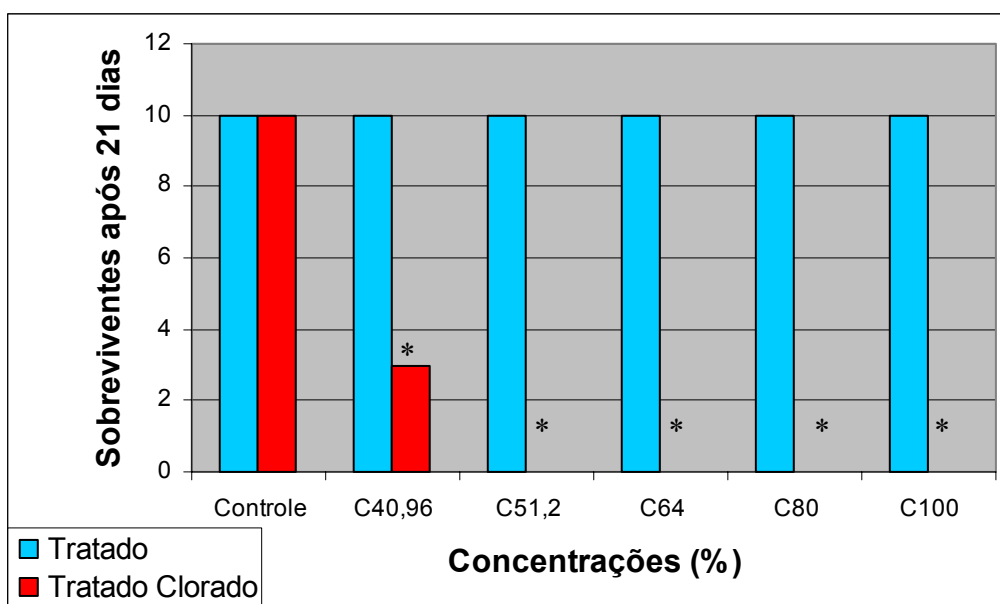


FIGURA 26: Número de *Daphnia magna* adultas sobreviventes expostas ao percolado tratado e percolado tratado com cloração.

### 5.5.3.2 Crescimento

O crescimento dos organismos-teste expostos ao efluente tratado apresenta uma redução proporcional ao aumento da concentração em que

estão expostos, sendo que a 100% há uma diferença significativa em relação ao controle.

Já, aqueles organismos que foram expostos ao efluente tratado clorado não tiveram longevidade que permita a análise do crescimento, uma vez que, com apenas 6 dias morreram. E, na concentração de 40,96%, que foi possível analisar, não observou-se diferença significativa em relação ao controle (Figura 27).

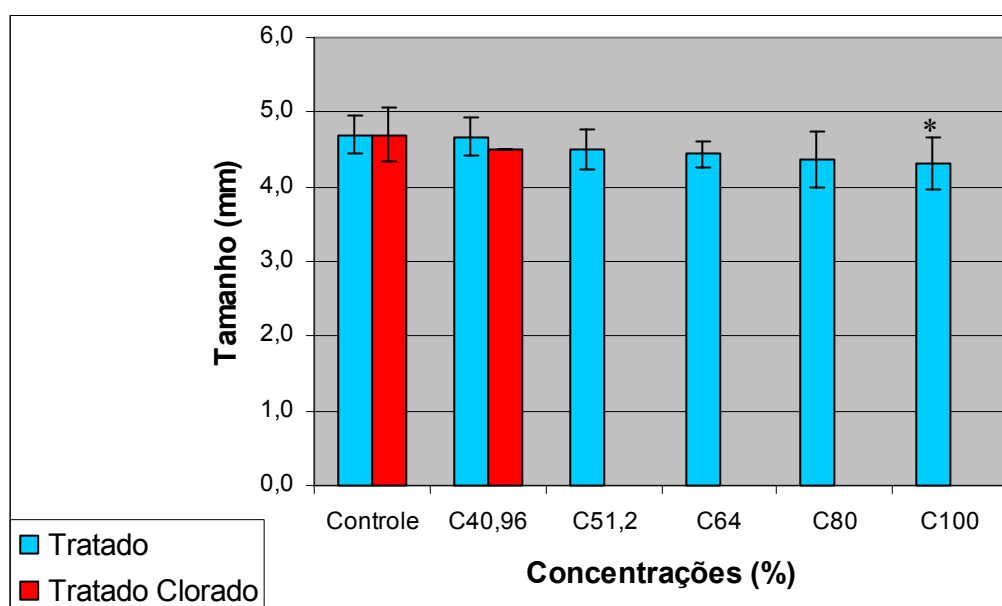


FIGURA 27: Comparação entre o tamanho de *Daphnia magna* após 21 dias expostas ao percolado tratado sem cloração e percolado tratado com cloração, avaliado através de coletas periódicas.

### 5.5.3.3 Fecundidade

O parâmetro fecundidade ficou prejudicado para realização de análises comparativas uma vez que houve problema com o controle dos testes desta bateria. A média de filhotes por mãe foi de 1,25 e 6,8, respectivamente para o controle dos testes com efluente tratado e efluente tratado clorado. Assim, de acordo com os critérios pré-estabelecidos para validação dos testes de toxicidade crônica, os testes desta bateria não podem ser considerados para análise de CENO e CEO.

Além disto, para o teste crônico realizado com o efluente tratado clorado não há a possibilidade de avaliação de fecundidade, pois os organismos-teste morreram antes da fase reprodutiva.

O que pode-se visualizar com clareza é que as daphnias expostas a concentração de 100% do efluente tratado têm uma produção média de filhotes menor que nas demais concentrações. Contudo, esta diferença não é significativa quando comparada com as médias de outras concentrações ( $P = 0,2302$ )(figura 28).

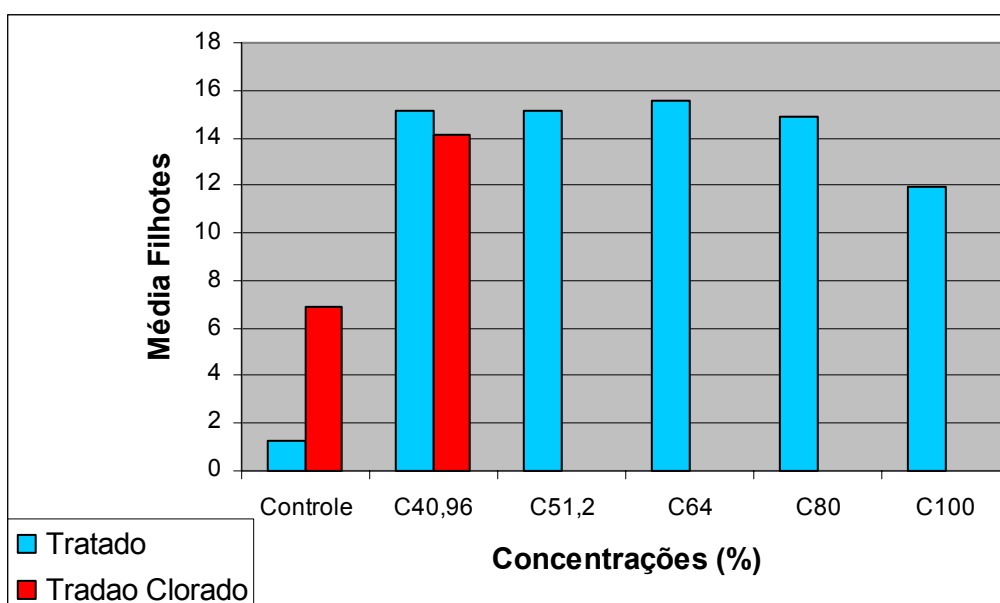


FIGURA 28: Comparação entre o número médio de filhotes produzidos por *Daphnia magna* quando expostas ao percolado tratado e percolado tratado clorado.

Diante dos resultados, observa-se que para o efluente tratado há um efeito crônico sobre o crescimento, na concentração 100%, que deixa de existir já na concentração de 80%. E, para o percolado clorado observa-se efeito crônico sobre a longevidade a partir da concentração 40,96%.

Observa-se que quando comparam-se os resultados de toxicidade crônica obtidos para o efluente tratado congelado e o efluente tratado coletado periodicamente, assim como, quando compara-se o efluente congelado, clorado em laboratório na concentração  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ , que procurou simular a situação que ocorre no aterro sanitário, ao efluente clorado coletado



periodicamente, em ambas as situações o efluente coletado periodicamente apresenta maior toxicidade. Este fato será discutido no item 5.7.

## 5.6 Implicações da desinfecção por cloração

Os resultados desta pesquisa provam maior toxicidade do efluente tratado clorado, quando comparado ao efluente tratado sem cloração. Ainda, a toxicidade crônica foi diretamente proporcional ao aumento da concentração de cloro na amostra.

Este fato já era esperado pois o cloro é reconhecidamente tóxico a *Daphnia magna*.

Os trabalhos envolvendo *Daphnia magna* para avaliação dos efeitos da cloração são escassos. Contudo, aqueles aqui citados revelam dados importantes. Cita-se o trabalho de Arthur *et al.* (1975) que encontrou uma CE50 7 dias para *Daphnia magna* exposta a monoclорamina de 0,002 a 0,014 mg.L<sup>-1</sup>.

Já, Cairns (1978) trabalhou com dados de CE50 24h e CE50 48h, expondo os organismos a diferentes doses de cloro livre. Os resultados revelaram CE50 24h de 0,14 mg.L<sup>-1</sup> e CE 50 48h de 0,116 mg.L<sup>-1</sup>.

Outros autores, Ward e DeGrave (1977), cloraram com monoclорamina amostras de esgoto com altos níveis de amônia. As amostras, assim preparadas, revelaram toxicidade de CE50 48h = 0,017mg.L<sup>-1</sup>.

Ward e DeGrave (1977) realizaram medições da concentração total de cloro residual em 30 e 60 min determinando a CE50 para estes tempos. Assim, tendo como base a concentração total de cloro residual, a CE50 30min para *Daphnia magna* foi de 0,097 mg.L<sup>-1</sup> e 60min de 0,063 mg.L<sup>-1</sup>.

Cardoso e Luca (2004), em um estudo sobre a toxicidade do efluente de esgoto de sete ETEs, avaliados antes e após desinfecção, descobriram que para os efluentes não tóxicos, o efluente desinfectado foi também não tóxico. Já, para efluentes tóxicos, a desinfecção usualmente resultou em um aumento

da toxicidade, com uma tendência geral de cloração>ozonização>irradiação ultravioleta.

Na pesquisa desenvolvida por Cardoso e Luca (2004), encontrou-se toxicidade aguda para o peixe *Pimephales promelas*, quando submetido a efluente de ETEs desinfetados por hipocloração nas concentrações de  $6\text{mg.L}^{-1}$  e  $13\text{mg.L}^{-1}$ .

Contudo, no contexto da presente pesquisa, é plausível também acreditar que a toxicidade é causada não apenas pelo cloro, mas também pelos subprodutos da cloração. Mesmo na ausência de cloro livre, pode ter ocorrido a formação de THMs, organoclorados, cloraminas, entre outros, formados após cloração. Corroborando isto, Nikolau *et al.* (2004) registrou que o aumento nas doses de cloro tem influência positiva na formação de subprodutos da cloração.

De toda forma, o efluente tratado antes de ser clorado apresenta qualidade toxicológica superior ao efluente tratado após cloração. Diante desta evidência, discute-se a necessidade de cloração do mesmo.

A exigência da legislação é, de acordo com o Decreto Estadual nº 14.250, de 05 de junho de 1981 (Estado de Santa Catarina, 1981), que corpos d'água classe 1 não recebam lançamentos de efluente. Assim, considerando que o Rio Inferninho que recebe a descarga da ETE seja classe 2 (o que seria a melhor condição de um corpo receptor de efluentes), a quantidade máxima de coliformes totais e fecais tolerada corresponde a 5.000 NMP/100mL para coliformes totais e 1.000 NMP/100mL para coliformes fecais.

O percolado do aterro sanitário de Biguaçu foi estudado por Guimarães (2005), durante o ano de 2004, de abril a julho, realizou-se um monitoramento mensal da quantidade de coliformes totais e fecais do percolado após tratamento, antes e após a cloração. Os resultados indicam que a quantidade de coliformes totais para o efluente antes da cloração, em todas as coletas, é superior a 2.419,2 NMP/100mL. Já para coliformes fecais os valores foram sempre inferiores a 30 NMP/100mL. Segundo Guimarães (2005), estes dados provam a alta eficiência na remoção de coliformes através do sistema de tratamento utilizado no aterro sanitário.

Assim, levando em conta os dados coletados por Guimarães (2005), o efluente após tratamento poderia ser descartado sem cloração, o que cumpriria o exigido pelo Decreto nº 14.250.

Diante da observação dos resultados da presente pesquisa e da pesquisa desenvolvida por Guimarães(2005), acredita-se ser necessário rever atual procedimento de desinfecção utilizado no aterro sanitário de Biguaçu.

## **5.7 Forma de preservação e amostragem**

Nesta pesquisa obteve-se resultados para toxicidade crônica de amostras de uma mesma ETE mantidas/obtidas sob três diferentes formas de amostragem/preservação: resfriamento, congelamento e coleta periódica .

Conforme consta na literatura as amostras ambientais utilizadas em bioensaios devem ter suas características preservadas ao máximo, no momento da coleta. Contudo, não existe regras absolutas para preservação das mesmas, no que diz respeito a período e tipo de estocagem, pois isto depende primeiramente da amostra, especialmente sua atividade biológica e química (Knie e Lopes, 2004).

Para o efluente em questão, observou-se que a preservação apenas por refrigeração não mantém suas características originais, uma vez que testando o mesmo efluente preservado de forma congelada e refrigerada, obtém-se maior toxicidade para a alíquota mantida congelada.

De acordo com a norma ISO 5667-16 (ISO, 1994), uma amostra pode ser mantida sob refrigeração para testes de toxicidade por até 2 meses. Contudo, conforme observado aqui é importante que esta informação seja verificada para a amostra que se está testando, pois como ressalva a norma: este período depende da estabilidade da amostra.

Ainda, observando-se as formas de amostragem, quando se comparam os resultados de toxicidade crônica obtidos para amostra coletada periodicamente aos resultados obtidos com as amostras coletadas e

congeladas, nota-se uma diferença nos resultados, revelando toxicidade maior para as amostras que foram coletadas periodicamente.

No caso desta pesquisa, diante da evidente mortandade que estava acontecendo com os organismos expostos à amostra coletada periodicamente, realizou-se um segundo teste de toxicidade aguda com a amostra do efluente tratado clorado. Neste momento o teste agudo revelou CE(I)50 48h de 8,8%, enquanto que a amostra da primeira coleta havia revelado uma amostra atóxica. Isto prova a variação da toxicidade no tempo.

Diante deste resultado, para esta pesquisa, é plausível crer que o que causou a maior toxicidade na amostra coletada periodicamente quando comparada com aquela congelada, é o fato de haver variação da composição da amostra no tempo. Portanto, verifica-se que a amostra varia no tempo, podendo apresentar-se mais ou menos tóxica dependendo do dia da coleta e isto afeta o resultado global.

Quando trabalhar-se com a coleta de uma amostra, congela-se e trabalha-se com alíquotas da mesma, exclui-se uma variável que é a variação da amostra no tempo. Esta variação pode ser um fator importantíssimo para biota que está sendo afetada pela amostra em questão e talvez a coleta periódica revele com maior veracidade dos resultados obtidos.

Concluindo, pode-se inferir que coletas periódicas permitem uma avaliação que considera a variação da amostra no tempo. Já, coletas pontuais revelam a toxicidade em um momento específico. A decisão por uma das formas de amostragem gerará diferentes resultados.

## **5.8 Observações morfológicas**

Ao finalizar o teste, durante a observação dos organismos-teste ao microscópio ótico, observaram-se malformações das carapaças de *Daphnia magna*.

Segundo Elmoor-Loureiro (2004), embora não muito freqüente, anomalias em cladóceros têm sido registradas pela literatura.

As malformações encontradas nesta pesquisa apresentaram um padrão definido: uma lesão na parte dorsal, terminal da carapaça, antes do espinho apical. Uma das lesões encontradas foi uma reentrância na carapaça (Figura 29 -B), esta por vezes ocorria aos pares, como fotografado na figura 29 - D. Outra era a ruptura da carapaça (Figura 29 - C), criando uma pequena fissura na mesma.

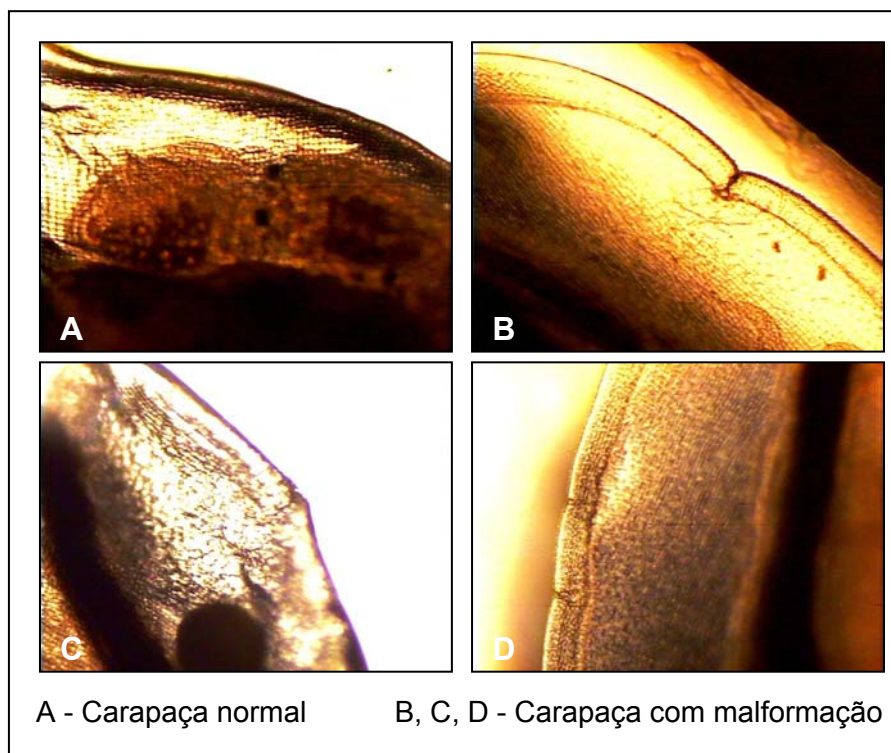


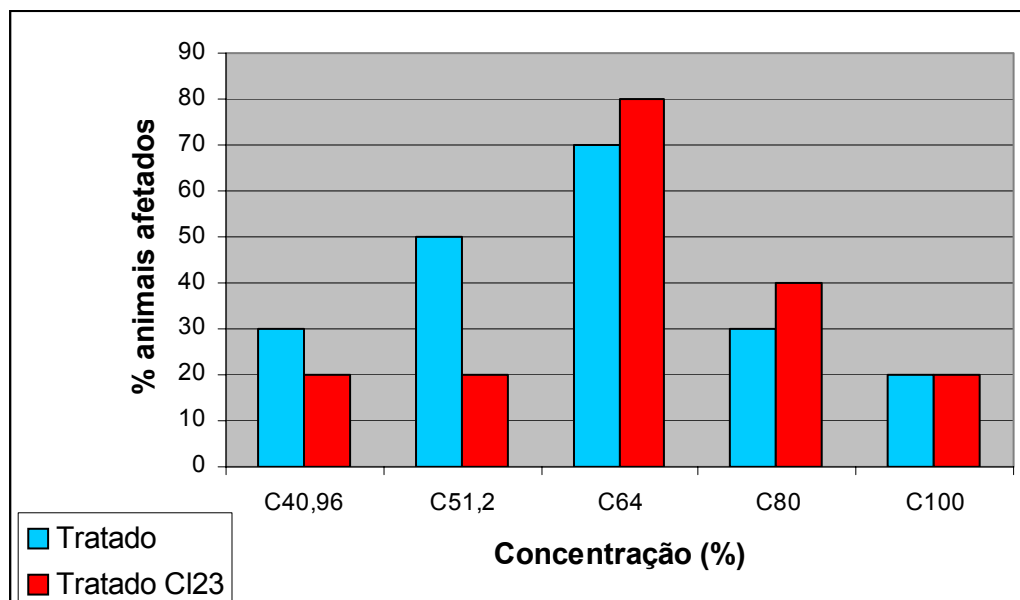
FIGURA 29: Exemplos das malformações encontradas nas carapaças de *Daphnia magna*. (Aumento de 40 X).

Este tipo de formação ocorreu na bateria 1 em 10% das daphnias expostas às diluições de 51,2% e 64% do efluente tratado congelado.

A bateria 2 apresentou os maiores índices de malformações, sendo que respectivamente 30, 50, 70, 30 e 20% das daphnias expostas às diluições 40,96; 51,2; 64; 80 e 100% do efluente tratado apresentaram malformação na carapaça. Estes índices são semelhantes quando o organismo é exposto ao efluente tratado clorado ( $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ ). Neste caso, respectivamente 20, 20, 80, 40

e 20% das daphnias expostas às diluições 40,96; 51,2; 64; 80 e 100% do efluente tratado clorado apresentaram malformação (Figura 30).

FIGURA 30: Índices de malformações observados nos testes realizados na



bateria 2 (B2).

Já na bateria 3, os índices de malformações são bem inferiores. Apenas 10% das daphnias expostas às concentrações 51,2 e 64% do efluente tratado apresentaram este tipo de malformação. Para o efluente tratado com uma cloração de  $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ , observou-se que apenas 10% das daphnias expostas às diluições 51,2 e 100% apresentaram malformações. E finalmente, para o efluente tratado com uma cloração de  $23 \mu\text{L.L}^{-1}$  não observou-se qualquer tipo de malformação.

Na bateria 4, apenas pode-se observar a carapaça dos organismos expostos ao efluente tratado, uma vez que os organismos expostos ao efluente tratado clorado morreram após 6 dias de teste. Neste caso, observou-se 20, 30 e 40% de daphnias com problemas na carapaça, respectivamente nas diluições 40,96; 51,2 e 64%.

A tabela a seguir (Tabela 6) sintetiza as informações ora descritas. Deve-se levar em conta que o total de organismos exposto por concentração é 10.

TABELA 6: Número de organismos-teste que apresentaram malformação no dorso da carapaça em cada uma das diluições dos testes das baterias realizadas.

	B1		B2			B3			B4	
	Refri	Congel	Tr	TrCl <sub>2,3</sub>	TrCl <sub>23</sub>	Tr	TrCl <sub>2,3</sub>	TrCl <sub>23</sub>	Trp	TrCl
Control	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
<b>C40,96</b>	0	0	3	-	2	0	0	0	2	-
<b>C51,2</b>	0	1	5	-	2	1	1	0	3	-
<b>C64</b>	0	1	7	-	8	1	0	0	4	-
<b>C80</b>	0	0	3	-	4	0	0	0	0	-
<b>C100</b>	0	0	2	0	2	0	1	0	0	-

Legenda: Refri= efluente tratado refrigerado; Congel= efluente tratado congelado; Tr= efluente tratado; TrCl<sub>2,3</sub>= efluente tratado clorado a concentração 2,3uL.L<sup>-1</sup> de NaClO a 0,5%; TrCl<sub>23</sub>= efluente tratado clorado a concentração 23uL.L<sup>-1</sup> de NaClO a 0,5%; Trp= efluente tratado coletado periodicamente; TrCl= efluente tratado clorado coletado periodicamente.

É relevante notar que em todos os testes, independentemente da amostra que se está testando, a expressão máxima da malformação se dá na concentração de 64%.

A mesma malformação foi observada nos controles, contudo, os índices revelados nesta situação são de no máximo 30% e ocorreram isoladamente em dois testes. Esta informação pode estar indicando que a malformação observada ocorre naturalmente na população, não sendo causada por agentes tóxicos presentes na amostra. Porém, o que é evidente é que este tipo de malformação é potencializado pela exposição a algum agente tóxico presente nas amostras testadas e, que na concentração de 64% torna-se, talvez, mais disponível ao metabolismo dos organismos-teste.

Ohta *et al.* (1997) trabalharam com isolamento de ovos de cladóceros e posterior exposição dos mesmos à substância ethylenethiourea (ETU), comprovadamente teratogênica. O interessante é que os organismos que desenvolveram-se sob estas condições apresentaram malformações em suas carapaças muito semelhantes àquelas observadas nesta pesquisa. Na figura 31 é possível observar o embrião de *Daphnia magna*, com a lesão na carapaça no mesmo lugar registrado por esta pesquisa.



FIGURA 31: Lesão na carapaça visualizada em embriões expostos à substância ETU. O local da lesão coincide com o local da lesão identificada nesta pesquisa.

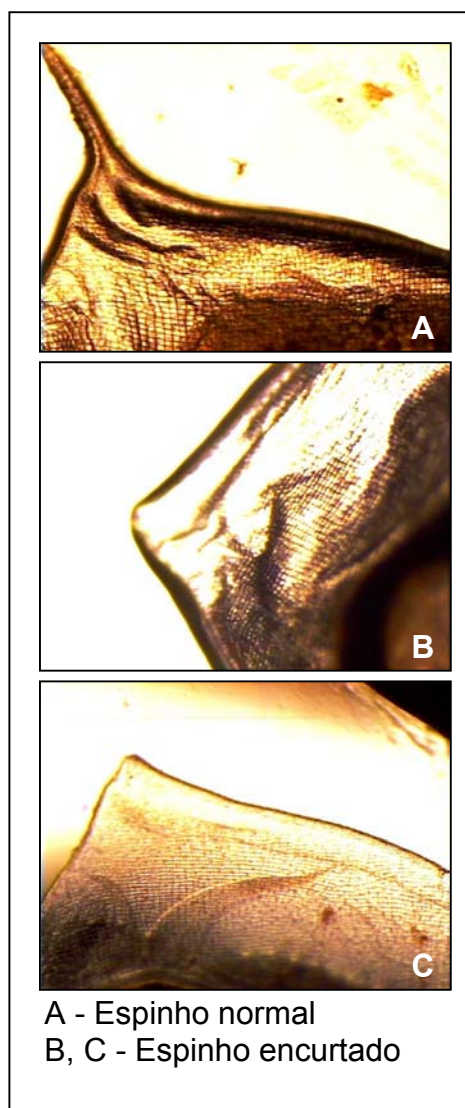
Fonte: Ohta (1997).

Segundo Elmoor-Loureiro (2004), estas malformações têm sido registradas, porém pouco investigadas. É difícil determinar a causa da mesma, contudo é um alerta para a necessidade do monitoramento de toxicidade crônica dos efluentes lançados no ambiente.

Outra malformação observada foi o encurtamento do espinho apical da carapaça, como pode-se observar na figura 31. O espinho normal tem cerca de 1mm e apresenta o formato ilustrado na figura 32 - A, os demais (B e C) são espinhos com malformação.



FIGURA 32: Exemplos das malformações encontradas nos espinhos de



*Daphnia magna*. (Aumento de 40 X).

Esta observação foi menos freqüente. Nas baterias 1 e 4 ela não foi registrada.

Na bateria 2 apareceu em 10% das daphnias expostas à diluição de 40,96% do efluente tratado, em 20% das daphnias expostas à diluição 51,2% do efluente tratado clorado ( $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ ).

Na bateria 3, 10% dos organismos-teste expostos às diluições de 51,2; 80 e 100% do percolado tratado apresentaram este tipo de problema. Na mesma bateria, a amostra de efluente tratado com cloração ( $2,3 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) apresentou 20% das daphnias da diluição 40,96% com esta malformação. E,

apenas 10% das daphnias expostas ao efluente tratado com cloração ( $23 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) apresentaram malformação na concentração de 100%.

Neste caso, não ficou evidente um padrão claro de frequência do aparecimento deste problema, apesar de ocorrer com maior frequência nas concentrações mais baixas. A tabela 7 sintetiza as informações acima descritas. Para observação da tabela deve-se considerar que o total de organismos expostos a cada diluição é 10.

TABELA 7: Número de organismos-teste que apresentaram malformação do espinho apical em cada uma das concentrações dos testes das baterias realizadas.

	B1		B2			B3			B4	
	Refri	Congel	Tr	TrCl <sub>2,3</sub>	TrCl <sub>23</sub>	Tr	TrCl <sub>2,3</sub>	TrCl <sub>23</sub>	Trp	TrCl
Control	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>C40,96</b>	0	0	1	-	0	0	2	0	0	-
<b>C51,2</b>	0	0	0	-	2	1	0	0	0	-
<b>C64</b>	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-
<b>C80</b>	0	0	0	-	0	1	0	0	0	-
<b>C100</b>	0	0	0	0	0	1	0	1	0	-

Legenda: Refri= efluente tratado refrigerado; Congel= efluente tratado congelado; Tr= efluente tratado; TrCl<sub>2,3</sub>= efluente tratado clorado a concentração  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  de NaClO a 0,5%; TrCl<sub>23</sub>= efluente tratado clorado a concentração  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  de NaClO a 0,5%; Trp= efluente tratado coletado periodicamente; TrCl= efluente tratado clorado coletado periodicamente.

Bohrer (1995) também observou alterações morfológicas do tipo da descrita anteriormente em *Moina micrura*. A autora registra alterações morfológicas nas segundas antenas, tais como perda das setas e de artículos, o que dava aspecto de atrofia e dificultava a natação dos organismos, bem como cerdas abdominais modificadas.

As malformações observadas não foram creditadas para avaliação da toxicidade crônica por não estarem previstas na realização deste trabalho e por falta de dados na literatura sobre o tema. Entretanto, mesmo para as amostras de percolado tratado, onde considera-se não haver toxicidade crônica,

observou-se incremento no índice de malformações. Este fato pode vir a ser considerado em trabalhos futuros.

## 6. CONCLUSÕES

Em relação ao **desenvolvimento da metodologia** de teste crônico com *Daphnia magna* realizado no LABTOX conclui-se que:

Para validar um teste crônico com *Daphnia magna* é necessário que no mínimo 80% do controle tenha longevidade de 21 dias. Ainda, que no controle, ocorram 4 posturas e uma produção média de 20 filhotes por fêmea ao longo de 21 dias.

Quanto à **forma de preservação** de efluente tratado do aterro sanitário para desenvolvimento de teste de toxicidade crônica conclui-se que:

Entre a preservação por resfriamento e congelamento, a preservação por congelamento é mais apropriada.

Em relação à **avaliação da toxicidade crônica** de efluente tratado de aterro sanitário mantido congelado e clorado em laboratório conclui-se que:

O efluente tratado de aterro sanitário não apresenta toxicidade crônica ao organismo-teste *Daphnia magna* nas condições testadas. Apresenta, portanto CENO de 100%.

O efluente tratado com cloração na concentração  $2,3\mu\text{L.L}^{-1}$  apresenta toxicidade crônica ao organismo-teste *Daphnia magna* nas condições testadas. Apresenta CEO=100% e CENO=80%.

O efluente tratado com cloração na concentração  $23\mu\text{L.L}^{-1}$  apresenta toxicidade crônica ao organismo-teste *Daphnia magna* nas condições testadas. Apresenta CEO=40,96%, não sendo possível determinar a CENO nas condições de teste.

A toxicidade crônica é diretamente proporcional à concentração de cloro na amostra.

Quanto à **forma de amostragem** de efluente tratado de aterro sanitário, antes e após cloração, conclui-se que:

Um teste crônico desenvolvido com coletas periódicas pode revelar maior toxicidade que outro desenvolvido com coleta pontual devido à variação na composição das amostras coletadas periodicamente, o que influencia no resultado global.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação ao desenvolvimento da metodologia de teste crônico com *Daphnia magna*, considera-se que um bom resultado depende da adequação dos parâmetros de validade do teste às peculiaridades de cada cultivo.

O teste apresenta, além de todas as vantagens do uso de testes de toxicidade, a vantagem de ser um teste de fácil manipulação em função do tamanho de *Daphnia magna*, com baixo custo e que fornece resultados objetivos, mensuráveis e passíveis de serem comparados.

Entretanto, pode-se apontar como desvantagem a necessidade de espaços consideráveis para realização do teste. Um único teste é composto por seis sequências de 10 béqueres de 50mL. Além disto, o teste é um procedimento trabalhoso e que requer manipulação durante todo o experimento. Por estes dois fatores, a realização de vários testes simultaneamente fica dificultada. Ainda, em função do ciclo de vida de *Daphnia magna*, uma correta avaliação crônica necessita de 21 dias, o que pode-se considerar um resultado lento.

Com relação aos parâmetros avaliados, utilizar o crescimento como parâmetro de efeito crônico é uma ferramenta citada na literatura e amplamente aceita, contudo, para os resultados obtidos nesta pesquisa, pareceu pouco eficiente. Primeiro porque as diferenças são muito sutis e a medição depende muito da habilidade do pesquisador. Estes fatores podem levar a erros como o que acredita-se ter ocorrido na bateria 2, onde não há

correspondência entre diluições e resultado para o crescimento. Segundo, porque na maioria das vezes a diferença não é significativa e este dado acaba não contribuindo para determinar CENO e CEO.

Em trabalhos futuros, recomenda-se aprimorar os parâmetros de validade do teste crônico, em especial a produção do número mínimo de filhotes por fêmea.

Ainda, as malformações encontradas nesta pesquisa devem ser melhor investigadas, principalmente a forma como incluir estas observações na mensuração da CEO e CENO.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10.004**: Resíduos sólidos – Classificação. Rio de Janeiro, 2004. 63 p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2003a. 16 p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13.373**: Ecotoxicologia Aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp. (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2003b. 12p.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 8.419**: Degradação do solo - terminologia. Rio de Janeiro, 1983. 45p.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AWWA - AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WEF - WATER ENVIRONMENTAL FEDERATION. **Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater**. 19<sup>a</sup> ed. Washington, 1995. 1.223p.

ARTHUR, J. W.; ANDREW, R.; MATTSON, V.; OLSON, D.; GLASS, G., HALLIGAN, B.; WALBRIDGE, C. Comparative toxicity of sewage-effluent disinfection to freshwater aquatic life. **Ecology Research**, Duluth, n. 60013-75-012, p. 62. 1975.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. da M. (Org.). **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RIMa, 2003. 340p.



- BIDONE, F. R. A.; POVINELLI, J. **Conceitos básicos de resíduos sólidos**. São Carlos: EESC/USP, 1999. 120p.
- BIDONE, F. R. A.; POVINELLI, J.; COTRIM, S. L. S. Tratamento de Lixiviado de Aterro Sanitário através de Filtros Percoladores. In: 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1997, Foz do Iguaçu. **Anais do 19º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Foz do Iguaçu, 1997, p. 19.
- BOHRER, M. B. **Biomonitoramento das lagoas de tratamento terciário do sistema de tratamento dos efluentes líquidos industriais (SITEL) do pólo petroquímico do sul, Triunfo, RS, através da comunidade zooplanctônica**. 1995. 469p. Tese (Doutorado em Ciências) - UFSCar, São Paulo.1995.
- BRASIL. **Constituição da República Federativa do Brasil**. Promulgada em 5 de outubro de 1988. 27 ed. São Paulo: Saraiva, 2001.
- BRASIL. Resolução Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 357, de 17 de março de 2005. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de março de 2005.
- BRENTANO, D. M.; LOBO, E. Biomonitoramento de caráter ecotoxicológico no Vale do Rio Pardo, RS, Brasil. **Revista Tecno-Lógica**, Santa Cruz do Sul, n. 2, v. 7, p. 85-95. 2003.
- CAIRNS, J. JR. Estimating hazard. **Biosciense**, v.30, p. 101-107.1978.
- CARDOSO, L.; LUCA, S. J. Toxidez de efluentes municipais biologicamente tratados e desinfetados com hipoclorito e ferrato de sódio. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 1, p 26-29. 2004.
- CASTILHOS JUNIOR, A. B. (Org.) ; LANGE, Lisete Celina (Org.) ; GOMES, Luciana Paulo (Org.) ; PESSIN, Neide (Org.) . **Resíduos sólidos urbanos: aterro sustentável para municípios de pequeno porte**. Rio de Janeiro: ABES, 2003.
- CHASIN, A. A. da M.; PEDROZO, M. de F. M. O estudo da toxicologia. In: AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. da M. (Org.) **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RIMa, 2003. 340p.

- CHU, S. P. The influence of the miceral composition of the medium on the growth of planktonic algae. I – methods and culture media. **Journal of Ecology**, n.30, p. 284-325. 1942.
- COUTO, M. C. L.; BRAGA, F. S. Tratamento de chorume de aterro sanitário por associação de reator anaeróbico de fluxo ascendente com manta de lodo e reator anaeróbico por infiltração rápida. In: 22º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental: Saneamento Ambiental, Ética e Responsabilidade Social, 2003, Joinville. **Anais do 22º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental**. Joinville, 2003, p. 383.
- DIN - DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG. **DIN 38412**: testverfahren mit Wasserorganismen (gruppeL) Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen. 1989.
- ELMOOR-LOUREIRO, L. M. A. Morphological abnormalities in the Cladoceran *Ilyocryptus spinifer* (Apipucos Reservoir, Pernambuco State, Brazil). **Braz. J. Biol**, v.64, n.1, p. 53-58, 2004.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EMSL Cincinnati Dunnet Software version 1.5**. Disponível em: <[www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm](http://www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm)>. Acessado em 05 de julho de 2005.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA. EPA-821-R-02-013: **Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms**. 4th ed. Washington, USA, 2002a.
- EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. USEPA. EPA-821-R-02-012: **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 5th ed. Washigton, USA. 2002b.
- ESTADO DE SANTA CATARINA. Decreto Estadual nº 14.250, de 05 de junho de 1981. **Diário Oficial de Santa Catarina**, Florianópolis, 09 de junho de 1981.
- ESTADO DE SANTA CATARINA. **Diagnóstico do levantamento de dados dos resíduos sólidos dos municípios do Estado , com revisão das**

**diretrizes para a formulação da Política Estadual dos Resíduos Sólidos.** Secretaria do Estado de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Florianópolis, 2001.

ESTADO DE SANTA CATARINA. Mapas Interativos. Centro de Informática e Automação do Estado de Santa Catarina. Disponível em: <[www.mapainterativo.ciasc.gov.br](http://www.mapainterativo.ciasc.gov.br)>. Acessado em 23 de outubro de 2005.

ESTADO DE SANTA CATARINA. Portaria da Fundação do Meio Ambiente nº 17, de 18 de abril de 2002. Disponível em: <[www.fatma.sc.gov.br](http://www.fatma.sc.gov.br)>. Acessado em: 25 de março de 2004.

FINKLER, R. **Avaliação do efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de *Daphnia magna*.** 2002. 105p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). UFSC, Florianópolis. 2002.

FIRTA, I. N.; CASTILHOS JUNIOR, A. B.; DELAZARI, P. V. A.; TRENNEPOHL, F. G. A variação do volume de líquidos percolados com a precipitação – um estudo em escala experimental. In: 22º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental: Saneamento Ambiental, Ética e Responsabilidade Social, 2003, Joinville. **Anais do 22º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental.** Joinville, 2003, p. 22.

FONSECA, A. L. **A biologia das espécies *Daphnia leavis*, *Ceriodaphnia dubia silvestri* (Crustacea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poeciliidae) e o comportameto destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais.** 1991. 210p. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento). UFSCAR, São Paulo. 1991.

FONSECA, A. L. **Avaliação da qualidade da água na Bacia do Rio Piracicaba através de testes de toxicidade com invertebrados.** 1997. 183p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento). UFSCar, São Paulo. 1997.

GOLDSTEIN, E. G. Testes de toxicidade de Efluentes Industriais. **Revista CETESB de Tecnologia – Ambiente**, São Paulo, n.1, v.1, p. 33-37. 1988.

GRAPHPAD SOFTWARES. **GaphPad Instat versão 3.0.** San Diego, Califórnia, USA, 2005.

- GUIMARÃES, V. M. **Determinação do potencial tóxico e genotóxico de líquido percolado gerado em aterramento sanitário de resíduos sólidos urbanos**. 2005. 90p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental). UFSC, Florianópolis. 2005.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for calculation of EC50 and LC50 values in bioassays. **Burlington research inc. fci. tecnol.** n. 11, v. 7, p. 114-119. 1977.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico - 2000**. Rio de Janeiro: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, 2002.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Programa de Modernização do Setor Saneamento Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento: diagnóstico da gestão e manejo de resíduos sólidos urbanos – 2002**. Brasília: MCIDADES.SNSA:IPEA, 2004.
- ISO - INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO 5667-16**: water quality - Sampling - Part 3: Guidance on the preservation and handling of samples. USA, 1994. 8p.
- ISO - INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **ISO 6341**: water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). USA, 1996. 7 p.
- KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 289 p.
- LEITE, L. E. H. B. C., FILHO, A. R., SILVA, E. M. R. Avaliação da Produção de Percolado do Lixo e da Capacidade Filtrante de Aterros Sanitários. **Engenharia Sanitária**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 01, p. 90-99. 1982.
- LOBO, E. A.; CALLEGARO, V. L. Avaliação da qualidade de águas doces continentais com base em algas diatomáceas epilíticas: Enfoque metodológico. p. 277- 300. In: TUCCI, C. E. M. & MARQUES, D. M. (Org.), **Avaliação e Controle da Drenagem Urbana**. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS. 558p. 2000.

- MACÊDO, J. A. B. de. **Águas & Águas**. 2<sup>a</sup> ed. CRQ - MG: Belo Horizonte, 2004. 1000 p.
- MATIAS, W. G. **Estude des mecanismes moleculaire d'action de l'acide okadaïque, une toxine marine diarrheique, in vivo et in vitro**. 1996. 183p. Tese (Doutorado em Toxicologia Ambiental). Universite de Bordeaux, Bordeaux, França. 1996.
- MOSER, M.C.; MACHADO, V. G.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; HOINASKI, L.; BRENTANO, D. M.; VIEIRA, F. C. S.; MATIAS, W. G. Sensibilidade do cultivo de *Daphnia magna* no Laboratório de Toxicologia Ambiental - LABTOX - ENS/UFSC. In: VIII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. **Livro de Resumos do Ecotox 2004**. Florianópolis, 2004, p. 74.
- NIKOLAOU, A. D.; LEKKAS, T. D.; GOLFINOPOULOS, S. K. Kinetic of the fomation and decomposition o chlorination by-products in surface waters. **Chemical Engineering Journal**, v. 100, p. 139-148. 2004.
- NUNES, D. C. L.; FONSECA, A. L. Avaliação da eficiência da ETE (Estação de Tratamento de Efluente) da indústria Mahlet/Itajubá utilizando bioensaios de toxicidade aguda com microcrustáceos. In: VII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, 2002, Vitória. **Livro de Resumos VII Ecotox**. Vitória, 2002, p. 163.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidelines 202: *Daphnia* sp., acute immobilisation test and reproduction test** - Part II. Paris, 1984. 16p.
- OHTA, T.; TOKISHITA, S.; SHIGA, Y.; HANAZATO, T; YAMAGATA, H. An assay system for detecting environmental toxicants with cultures cladoceran eggs in vitro: malformations induced by ethylenethiourea. **Envioronmental Research**, v.77, p. 43-48. 1997.
- PEREIRA, A. M. S. ; LUCA, S. J. . Método espectrofotométrico para análise de trihalometanos em água de abastecimento público. In: International Symposium on Integrated Approaches to Water Pollution Problems, 1989. **International Symposium on Integrated Approaches to Water Pollution Problems**. 1989, p. 247-256.

- RAND, G. M. **Fundamentals of aquatic toxicology: effects, environmental fate, and risk assessment**. 2nd edition. North Palm Beach, Florida: Taylor e Francis. 1995. 1125p.
- REICHERT, G. A. **Aterro sanitário: projeto, implantação e operação**. Porto Alegre: ABES, 2000.
- RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ª ed. São Paulo: Roca, 1996. 1029p.
- SAAR, J. H. **Biotestes para efluentes industriais – Ameaça ou solução?** Umwelt – Assessoria Ambiental. Artigo Técnico. < [www.umwelt-sc.com.br](http://www.umwelt-sc.com.br)>. 2002.
- 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.
- TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R. Reproduction and survival of *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea: Cladocera) under different hardness conditions. **Acta Limnologica Brasiliis**, v.15, n.2, p. 51-55. 2003.
- TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R.; CORREA, L. M. Ação tóxica do sedimento do Rio dos Sinos na sobrevivência e na reprodução de *Daphnia magna* Straus, 1820 (Crustacea). In: VI Congresso de Ecologia do Brasil, 2003, Fortaleza. **Anais do VI Congresso de Ecologia do Brasil**. Fortaleza, 2003, p. 397-399.
- TERRA, N. R.; FEIDEN, I. R.; NUNES, E. **Efeito do sedimento do Rio Gravataí na reprodução e na sobrevivência de *Daphnia magna*, 1820, Straus (Crustacea: Cladocera)**. In: IV Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental, 2004, Porto Alegre. **Anais do IV Simpósio Internacional de Qualidade Ambiental**. Porto Alegre, 2004, T436 - meio digital.
- URASE, T.; SALEQUZZAMAN, M.; KOBAYASHI, S.; MATSUO, K. Y. T.; SUZUKI, N. Effect of high concentration of organic and inorganic matters in landfill leachate on the treatment of heavy metals in very low concentration level. **Water Science Technology**, v. 36, p. 349–356. 1997.

- WARD, R. W.; DEGRAVE, G. M. Acute residual toxicity of several wastewater disinfectants to aquatic life. Am. **Water Resour. Bull**, v. 14, p. 646-709. 1977.
- WEBER, C. I. **Method for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms**. Cincinnati, Ohio: EPA, 1993. 253p.
- ZAGATTO, P. A.; GOLDSTEIN, E. G; BERTOLETI, E. Toxicidade de Efluentes Industriais na Bacia do Rio Piracicaba. **Revista CETESB de Tecnologia – Ambiente**, São Paulo, n. 2, v. 1, p. 39-42.1988.

## ANEXO I

### Dados brutos da bateria 1 (B1)

#### Legenda:

Vermelho = macho

Verde = alterações morfológicas na carapaça

Azul = alterações morfológicas no espinho

Petróleo = alterações morfológicas na carapaça e no espinho

#### LONGEVIDADE

	<b>Refrigerado</b>	<b>Congelado</b>
	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias
<b>Controle</b>	10	10
<b>Diluições</b>		
C40,96	10	10
C51,2	10	10
C64	10	10
C80	10	10
C100	10	10



CRESCIMENTO

	Refrigerado			Congelado		
	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão
<b>Controle</b>	4,0	4,15	0,241523	4,0	4,15	0,241523
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,5			4,5		
	4,0			4,0		
	4,5			4,5		
	4,5			4,5		
	4,5			4,5		
<b>Diluições</b>						
<b>C40,96</b>	5,0	4,45	0,437798	4,0	4,44	0,46398
	4,5			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,5			5,0		
	4,0			5,0		
	5,0			5,0		
	4,0			4,5		
	5,0			4,5		
	4,5			3,0		
<b>C51,2</b>	3,0	4,13	0,231455	4,0	4,05	0,437798
	3,0			4,5		
	4,5			4,0		
	4,0			3,5		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,5			3,5		
	4,0			5,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
<b>C64</b>	3,0	4,13	0,231455	4,0	4,0	0,235702
	3,0			4,0		
	4,5			4,0		
	4,5			3,5		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,5		
	4,0			4,0		

<b>C80</b>	4,0	4,00	0,235702	4,0	4,0	0
	3,5			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,5			4,0		
<b>C100</b>	4,0	4,20	0,788811	4,0	4,0	0
	5,0			4,0		
	3,0			4,0		
	5,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	4,0			4,0		
	5,0			4,0		
	3,0			4,0		
	5,0			4,0		

FECUNDIDADE

	Refrigerado		Congelado	
	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média
<b>Controle</b>	63	15,1	63	15,13889
	77		67	
	57		57	
	67		77	
	38		38	
	59		55	
	63		63	
	66		66	
	55		59	
	<b>macho</b>		morte	
<b>Diluições</b>				
<b>C40,96</b>	46	14,6	90	19,00
	69		77	
	57		65	
	50		78	
	67		76	
	52		69	
	70		80	
	67		67	
	50		82	
	56		<b>macho</b>	
<b>C51,2</b>	<b>macho</b>	16,4375	65	11,775
	<b>macho</b>		39	
	70		56	
	51		46	
	55		32	
	70		49	
	71		52	
	65		37	
	87		42	
	57		53	
<b>C64</b>	<b>macho</b>	16,09375	49	11,525
	<b>macho</b>		49	
	50		45	
	73		52	
	49		45	
	59		35	
	72		51	
	58		57	
	66		57	
	88		21	
<b>C80</b>	69	16,55	43	10,25
	66		37	
	70		39	

	64		30	
	66		41	
	70		45	
	67		34	
	67		48	
	57		40	
	66		53	
<b>C100</b>	47	15,6	50	12,4
	77		32	
	56		33	
	68		36	
	63		54	
	52		62	
	67		54	
	61		52	
	60		58	
	73		65	

## ANEXO II

### Dados brutos da bateria 2 (B2)

#### Legenda:

Vermelho = macho

Verde = alterações morfológicas na carapaça

Azul = alterações morfológicas no espinho

Petróleo = alterações morfológicas na carapaça e no espinho

#### LONGEVIDADE

	<b>Tratado</b>	<b>Tratado Clorado 2,3 uL.L<sup>-1</sup></b>	<b>Tratado Clorado 23 uL.L<sup>-1</sup></b>
	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias
<b>Controle</b>	10	10	10
<b>Diluições</b>			
C40,96	10		9
C51,2	10		10
C64	10		10
C80	10		10
C100	9	10	10

CRESCIMENTO

	Tratado			Tratado Clorado 2,3 uL.L <sup>-1</sup>			Tratado Clorado 23 uL.L <sup>-1</sup>		
	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão
<b>Control e</b>	4,0	4,7	0,4216 37	4,5	4,3	0,25	4,5	4,3	0,25
	4,5			4,5			4,5		
	4,5			4,0			4,0		
	5,0			4,5			4,5		
	5,0			4,0			4,0		
	4,0			4,0			4,0		
	5,0			4,5			4,5		
	5,0			4,5			4,5		
	5,0			4,5			4,5		
	5,0			4,0			3,0		
<b>Diluições</b>									
<b>C40,96</b>	4,5	4,2	0,2581 99				4,0	3,9	0,3204 35
	4,0						3,5		
	4,5						4,0		
	4,5						4,0		
	4,5						4,0		
	4,0						3,5		
	4,0						4,0		
	4,0						4,5		
	4,0						3,0		
	4,0						morte		
<b>C51,2</b>	4,0	4,1	0,1581 14				4,5	4,0	0,2838 23
	4,0						3,5		
	4,0						3,5		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,5						4,0		
	4,0						4,0		
<b>C64</b>	5,0	4,4	0,4743 42				4,5	4,1	0,2838 23
	4,0						4,5		
	5,0						3,5		
	4,0						4,0		

	5,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,5						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
<b>C80</b>	4,0	4,2	0,3496 03				4,0	3,7	0,3496 03
	4,5						3,5		
	4,0						3,5		
	4,0						3,5		
	4,0						4,0		
	5,0						3,0		
	4,0						3,5		
	4,0						4,0		
	4,0						4,0		
	4,5						4,0		
<b>C100</b>	4,0	4,4	0,4755 95	4,5	4,2	0,4116 36	4,0	4,0	0,3689 32
	4,0			4,5			4,0		
	5,0			4,5			4,0		
	5,0			4,5			4,5		
	4,5			4,5			4,5		
	4,0			4,0			4,0		
	4,0			4,0			3,5		
	3,0			3,5			3,5		
	3,0			3,5			3,5		
	morte			4,0			4,0		

FECUNDIDADE

	Tratado		Tratado Clorado 2,3 uL.L <sup>-1</sup>		Tratado Clorado 23 uL.L <sup>-1</sup>	
	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média
<b>Controle</b>	86	22,8	67	20,7	130	23,58333
	75		78		99	
	113		45		107	
	91		65		98	
	117		112		89	
	117		98		95	
	32		118		124	
	73		76		50	
	108		56		57	
	100		113		macho	
<b>Diluições</b>						
<b>C40,96</b>	70	18,45			39	8,611111
	62				27	
	82				28	
	62				41	
	82				39	
	83				37	
	41				31	
	83				29	
	73				39	
	100				morte	
<b>C51,2</b>	69	17,35			41	9,45
	52				46	
	78				34	
	56				44	
	66				33	
	83				46	
	77				42	
	71				25	
	74				30	
	68				37	
<b>C64</b>	151	22,9			62	14,5
	93				47	
	84				54	
	94				48	
	87				82	
	128				53	
	66				69	
	82				48	
	33				67	
	98				50	
<b>C80</b>	125	24,6			76	13,85
	168				50	



	77				40	
	80				27	
	83				66	
	96				46	
	96				60	
	75				57	
	82				60	
	102				72	
<b>C100</b>	62	16,3	0	0	64	15,025
	83		0		53	
	51		0		88	
	129		0		77	
	76		0		12	
	115		0		58	
	75		0		60	
	61		0		61	
	macho		0		54	
	macho		0		74	

### ANEXO III

#### Dados brutos da bateria 3 (B3)

#### Legenda:

Vermelho = macho

Verde = alterações morfológicas na carapaça

Azul = alterações morfológicas no espinho

Petróleo = alterações morfológicas na carapaça e no espinho

#### LONGEVIDADE

	<b>Tratado</b>	<b>Tratado Clorado 2,3 uL.L<sup>-1</sup></b>	<b>Tratado Clorado 23 uL.L<sup>-1</sup></b>
	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias
<b>Controle</b>	10	10	10
<b>Diluições</b>			
C40,96	10	9	3
C51,2	10	10	4
C64	10	10	0
C80	10	10	0
C100	10	8	0

CRESCIMENTO

	Tratado			Tratado Clorado 2,3 uL.L <sup>-1</sup>			Tratado Clorado 23 uL.L <sup>-1</sup>		
	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão
<b>Control e</b>	5	4,95	0,4377 9	5,5	4,8125	0,4580 6	5	4,95	0,1581 14
	4			4			5		
	5,5			5			5		
	4,5			5			5		
	5			4,5			5		
	5			4,5			4,5		
	5,5			3			5		
	5			5			5		
	5			5			5		
	5			3			5		
<b>Diluições</b>									
<b>C40,96</b>	5	4,95	0,1581 14	5	4,6428 57	0,4755 95	5	5	0,712
	5			4			5		
	5			3			5,5		
	5			5			5		
	5			5			5		
	5			5			3		
	5			4,5			5		
	4,5			3			4,5		
	5			4			morte		
	5			morte			5		
<b>C51,2</b>	4,5	4,8	0,3496 03	5	5,15	0,2415 23	4,5	4,9	0,4594 68
	5			5			4		
	5			5			5		
	5			5			5		
	5			5,5			4,5		
	4,5			5			5,5		
	5			5			5,5		
	5			5,5			5		
	5			5			5		
	4			5,5			5		
<b>C64</b>	5	5	0	5	4,9	0,3162 28	5	4,9375	0,1767 77
	5			5			5		
	5			5			3		
	5			4			5		
	5			5			3		

	5			5			5		
	5			5			5		
	5			5			4,5		
	5			5			5		
	5			5			5		
<b>C80</b>	5	4,85	0,4743 42	4	4,5555 56	0,4639 8	3	4,8333 33	0,2581 99
	4			4,5			3		
	5			4			5		
	5,5			5			4,5		
	5			5			morte		
	5			3			4,5		
	5			5			5		
	5			4,5			morte		
	4			5			5		
	5			4			5		
<b>C100</b>	5	4,95	0,4972 14	4	5	0	4	4,6666 67	0,3535 53
	5			5			4,5		
	5			3			4,5		
	5,5			3			morte		
	5,5			5			5		
	4			Morte			4,5		
	5,5			3			5		
	4,5			Morte			5		
	4,5			5			5		
	5			5			4,5		

Observação: Quando os animais morriam após o 18º dia, tomavam-se as medidas do mesmo para obtenção dos dados de crescimento. Por isto, em algumas diluições, o número de sobreviventes em 21 dias é inferior ao número de medidas constante nesta tabela.

FECUNDIDADE

	Tratado		Tratado Clorado 2,3 uL.L <sup>-1</sup>		Tratado Clorado 23 uL.L <sup>-1</sup>	
	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média
<b>Controle</b>	125	24,625	89	20,90625	82	20,45
	91		90		92	
	119		82		64	
	97		79		84	
	105		91		62	
	80		82		93	
	84		macho		88	
	81		77		58	
	91		79		102	
	112		macho		93	
<b>Diluições</b>						
<b>C40,96</b>	105	29,475	90	23,53571	84	20,9375
	99		81		97	
	115		macho		85	
	123		94		80	
	123		97		89	
	151		111		macho	
	113		95		76	
	120		macho		83	
	120		91		morte	
	110		morte		76	
<b>C51,2</b>	106	29,75	82	21,475	117	20,55
	113		83		79	
	127		84		96	
	119		83		69	
	100		89		72	
	118		98		100	
	142		116		80	
	126		59		81	
	129		76		82	
	110		89		46	
<b>C64</b>	114	29,725	85	21,125	80	21,625
	89		78		105	
	122		88		macho	
	141		58		76	
	159		122		macho	
	131		84		92	
	72		50		110	
	120		85		71	
	121		121		87	
	120		74		71	
<b>C80</b>	144	30,45	69	20,38889	macho	20,5
	141		72		macho	

	144		77		82	
	84		74		75	
	143		109		morte	
	120		macho		88	
	134		107		80	
	104		79		morte	
	100		69		91	
	104		78		76	
<b>C100</b>	102	27,25	macho	18,16667	96	23,1
	88		64		94	
	85		macho		90	
	128		macho		78	
	128		119		122	
	112		66		91	
	109		macho		90	
	115		58		98	
	116		63		72	
	107		66		93	

## ANEXO IV

### Dados brutos da bateria 4 (B4)

#### Legenda:

Vermelho = macho

Verde = alterações morfológicas na carapaça

Azul = alterações morfológicas no espinho

Petróleo = alterações morfológicas na carapaça e no espinho

#### LONGEVIDADE

	<b>Tratado</b>	<b>Tratado Clorado</b>
	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias	Nº de adultas sobreviventes após 21 dias
<b>Controle</b>	10	10
<b>Diluições</b>		
C40,96	10	3
C51,2	10	0
C64	10	0
C80	10	0
C100	10	0

CRESCIMENTO

	Tratado			Tratado Clorado		
	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão	Réplicas Tamanho (mm)	Média	Desvio Padrão
<b>Controle</b>	4,5	4,7	0,258199	5,0	4,7	0,349603
	5,0			4,5		
	5,0			4,0		
	5,0			5,0		
	4,5			4,5		
	4,5			4,5		
	4,5			5,0		
	4,5			4,5		
	4,5			5,0		
	5,0			5,0		
<b>Diluições</b>						
<b>C40,96</b>	4,5	4,7	0,258199	morte	4,5	0
	4,5			4,5		
	5,0			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
				morte		
				4,5		
	5,0			morte		
				morte		
				4,5		
<b>C51,2</b>	4,5	4,5	0,267261	morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
				morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
				morte		
	4,0			morte		
	4,5			morte		
	5,0			morte		
<b>C64</b>		4,44	0,176777	morte		
	4,0			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
	4,5			morte		
<b>C80</b>	4,5	4,36	0,377964	morte		



				morte	
	4,0			morte	
	4,5			morte	
				morte	
	5,0			morte	
	4,5			morte	
				morte	
	4,0			morte	
	4,0			morte	
<b>C100</b>		4,3	0,358175	morte	
	4,0			morte	
	4,0			morte	
				morte	
	4,5			morte	
	4,5			morte	
	4,5			morte	
	5,0			morte	
	4,0			morte	
	4,0			morte	

Observação: alguns organismos não foram medidos nas diluições de teste do efluente tratado por problemas operacionais.

FECUNDIDADE

	Tratado		Tratado Clorado	
	Réplicas Nº filhotes	Média	Réplicas Nº filhotes	Média
<b>Controle</b>	0	1,25	10	6,888889
	12		25	
	5		9	
	9		49	
	0		24	
	5		27	
	5		18	
	4		12	
	9		0	
	1		74	
<b>Diluições</b>				
<b>C40,96</b>	61	15,11111	morte	14,16667
	79		49	
	66		morte	
	43		morte	
	79		morte	
	52		morte	
	0		49	
	44		morte	
	45		morte	
	75		72	
<b>C51,2</b>	43	15,13889	morte	
	76		morte	
	76		morte	
	0		morte	
	80		morte	
	51		morte	
	50		morte	
	71		morte	
	53		morte	
	45		morte	
<b>C64</b>	69	15,52778	morte	
	28		morte	
	78		morte	
	60		morte	
	67		morte	
	80		morte	
	61		morte	
	60		morte	
	0		morte	
	56		morte	
<b>C80</b>	69	14,85	morte	

	78		morte
	84		morte
	49		morte
	56		morte
	60		morte
	52		morte
	37		morte
	62		morte
	47		morte
<b>C100</b>	0	11,97222	morte
	61		morte
	66		morte
	49		morte
	40		morte
	46		morte
	55		morte
	43		morte
	27		morte
	44		morte

## ANEXO V

Resultados dos testes de toxicidade aguda para cada uma das baterias realizadas.

### BATERIA 1

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

### BATERIA 2

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado em laboratório, com hipoclorito de sódio 0,5%, concentração de 2,3  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado em laboratório, com hipoclorito de sódio 0,5%, concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

### BATERIA 3

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado em laboratório, com hipoclorito de sódio 0,5%, concentração de 2,3  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado em laboratório, com hipoclorito de sódio 0,5%, concentração de 23  $\mu\text{L.L}^{-1}$ .

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

## BATERIA 4

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado no próprio aterro.  
TESTE1

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	0	0
<b>25%</b>	0	0
<b>50%</b>	0	0
<b>100%</b>	0	0

Amostra: Efluente de aterro sanitário tratado clorado no próprio aterro.  
TESTE2

	Número de organismos imóveis	
	24h	48h
<b>Controle</b>	0	0
<b>Diluições</b>		
<b>6,2%</b>	0	0
<b>12,5%</b>	10	10
<b>25%</b>	10	10
<b>50%</b>	10	10
<b>100%</b>	10	10

CE(I)50 48h= 8,8%

FD= 8

## ANEXO VI

Os resultados preliminares deste trabalho foram apresentados no VII Congresso da SETAC - L. A., em outubro de 2005, em Santiago - Chile. Abaixo encontra-se uma réplica em miniatura do pôster apresentado.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental  
Laboratório de Toxicologia Ambiental



### Determinação da toxicidade de líquido percolado em aterro sanitário antes e após desinfecção por cloração, utilizando *Daphnia magna*

BRENTANO, Débora Monteiro; HOINASKI, Leonardo & MATIAS, William Gerson

Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC  
will@ens.ufsc.br

#### INTRODUÇÃO

Aterros sanitários configuram-se como sistemas biológicos predominantemente anaeróbios, onde ocorre a conversão da matéria orgânica em gás metano e em líquidos percolados (chorume). O chorume é potencialmente tóxico, devendo ser tratado antes do descarte. A etapa final do tratamento, no caso em análise, é a desinfecção por cloração que, pode gerar subprodutos como trihalometanos. Neste contexto, objetiva-se avaliar a toxicidade aguda e crônica do chorume tratado antes e após a cloração, utilizando o organismo-teste *Daphnia magna*.



#### METODOLOGIA

Os testes ecotoxicológicos agudos são realizados expondo os organismos jovens a diferentes concentrações da amostra, por 48h. Baseado na imobilidade dos organismos testados, calcula-se a porcentagem de mortalidade por concentração e estima-se a CE(1)50 48h. A CE(1)50 48h é calculada utilizando-se os métodos estatísticos Probit Method (Weber, 1993) para dados paramétricos e Trimmed Spearman-Kärber Method (Hamilton, 1979) para dados não paramétricos.

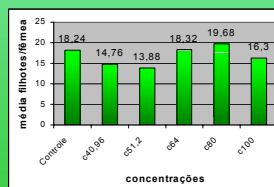


Os testes crônicos estão sendo realizados segundo protocolo estabelecido nesta pesquisa. Estes têm duração de 21 dias, são realizados com 5 diluições da amostra e executados de forma semi-estática. A frequência de mortalidade e comparação entre as proles são examinadas através dos testes de Tukey ou Kruskal-Wallis.

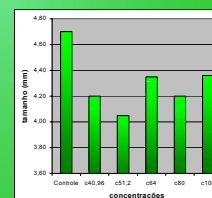


#### RESULTADOS PRELIMINARES

Até o momento, a pesquisa ocupou-se com a avaliação do chorume tratado antes da cloração. Os resultados preliminares provam que este efluente não apresenta toxicidade aguda ao organismo-teste. Ainda, os efeitos crônicos revelaram CENO de 80% e CEO de 100%. Ao final da pesquisa, espera-se análise conclusiva sobre a implicação da cloração na indução de toxicidade crônica em *Daphnia magna*.



Efeito crônico sobre a reprodução



Efeito crônico sobre o tamanho

LABTOX - LABORATÓRIO DE TOXICOLOGIA AMBIENTAL  
<http://www.ens.ufsc.br/labs/toxicologia.ambiental/index.html>

## **ANEXO VII**

Os resultados preliminares deste trabalho também foram apresentados na *Conference Ecology In an Age of Globalization*, em janeiro de 2006 em Mérida - México. Abaixo encontra-se uma réplica em miniatura do pôster apresentado.





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental  
Laboratório de Toxicologia Ambiental



## POTENTIAL TOXICITY OF THE PERCOLATED LIQUID IN SANITARY LANDFILLS AS TESTED BY *Daphnia magna*

BRENTANO\*, Débora Monteiro & MATIAS, William Gerson

\* Address: LABTOX, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFSC - Florianópolis/SC - Brazil (debibio@best.com.br)

### SANITARY LANDFILLS

The constant growth of urban populations, strong industrialization, and improvement in the purchasing power of the masses have led to the fast generation of great volumes of solid residues, mainly in the environs of the great cities. The environmentally correct and economically viable solution for this problem has been the sanitary landfills. Sanitary landfills are configured as predominantly anaerobic biological systems, where the conversion of the organic substance in gas methane and percolated liquids (leachate) occurs. Leachate is potentially toxic, thus it should be treated before discarding. The final stage of the treatment, in this case, is the disinfection through chlorination that can generate by-products as trihalomethanes.



### AIMS



Evaluating the acute and chronic toxicity of the leachate treated before and after the chlorination, using the organism-test *Daphnia magna*.

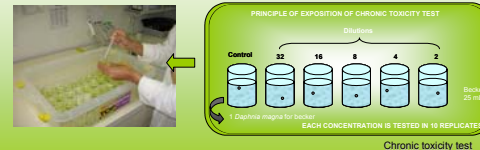
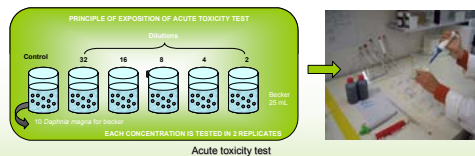
### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Brazilian Coordination of Perfectioning of Superior Level Staff (CAPES) and Pró-Activa - coordinating company of sanitary landfill.

### METHODS

The execution of the acute tests follows NBR 12.713 (2003), whereas the chronic tests are being carried through a protocol established in this research.

They last 21 days, are carried out with 5 dilutions of the sample and executed semi-statically. The frequency of mortality and comparison between the offspring are examined through Dunnett's test.



## LA TOXICIDAD POTENCIAL DEL LÍQUIDO INFILTRADO EN TERRAPLENES SANITARIOS SEGÚN LO PRUBADO POR *DAPHNIA MAGNA*

El crecimiento constante de poblaciones urbanas, la fuerte industrialización y la mejora en el poder adquisitivo de las masas ha conducido a la generación rápida de los grandes volúmenes de residuos sólidos, principalmente en los alrededores de las grandes ciudades. La solución ambientalmente correcta y económicamente viable para este problema ha sido los terraplenes sanitarios. Los terraplenes sanitarios se configuran como sistemas biológicos predominante anaerobios, donde ocurre la conversión de la sustancia orgánica en el gas metano y los líquidos infiltrados. Este líquido es potencialmente tóxico, así debe ser tratado antes de desechar. La etapa final del tratamiento, en este caso, es la desinfección con cloro que, puede generar subproductos como trihalometanos. En este contexto, la puntería es evaluar la toxicidad aguda y crónica del leachate tratado antes y después la desinfección con cloro, usando el organismo-prueba *Daphnia magna*. La ejecución de las pruebas agudas sigue NBR 12.713 (2003), mientras que las pruebas crónicas se están llevando con un protocolo establecido en esta investigación. Duran 21 días, se realizan pruebas con 5 diluciones de la muestra y se ejecutan pruebas semi-estáticas. La frecuencia de la mortalidad y de la comparación entre el descendiente se examina através de las pruebas de Dunnett. Los resultados preliminares prueban que el efluente, mismo después de la desinfección con cloro, no presenta toxicidad aguda a el organismo-prueba. Los efectos crónicos han revelado no haber toxicidad crónica para el leachate tratado antes de la desinfección, pero hay una reducción en el tamaño de el organismo-prueba expuesto. El leachate tratado después de la desinfección presenta CEO de 40,96%. Para el final de este estudio, se espera el análisis concluyente de la implicación de la desinfección con cloro en la inducción crónica de la toxicidad en *Daphnia magna*.

### PRELIMINARY RESULTS

The preliminary results prove that the leachate treated before and after the chlorination does not present acute toxicity to the organism-test. However, the chronic effects have revealed CEO of 40,96% for the leachate treated after chlorination. The leachate treated before chlorination does not present chronic effect to *Daphnia magna* when analyzed the reproduction, but there is a important difference in the size between control and concentrations 40,96%, 51,2% and 80%.

By the end of this study, conclusive analysis of the implication of chlorination in chronic toxicity induction in *Daphnia magna* is expected.

