



**ENSAIO DE ECOTOXICIDADE UTILIZANDO  
*Pseudokirchneriella subcapitata*, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Artemia salina* PARA CARACTERIZAÇÃO DE  
LIXIVIADO PROVENIENTE DE ATERRO SANITÁRIO**

**Flávia Kawahigashi  
Daniele Satie Koga  
Emília Kiyomi Kuroda**

**Resumo:** A decomposição da matéria orgânica presente nos resíduos sólidos resulta na produção de um líquido altamente poluidor, denominado lixiviado ou percolado ou chorume. As técnicas utilizadas para o tratamento deste lixiviado muitas vezes não resultam na produção de um efluente de qualidade aceitável em relação à toxicidade, o que impõe a necessidade de seu controle, de forma que não cause efeitos tóxicos ao meio ambiente. No presente trabalho, foram realizados ensaios de ecotoxicidade com os seguintes organismos-teste: *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Artemia salina*. Os efluentes testados foram o lixiviado bruto, o tratado por processo biológico, o pós-tratado por processo físico-químico de coagulação-floculação-sedimentação - CFS utilizando o cloreto férrico como coagulante químico e o pós-tratado por adsorção em carvão ativado granular – CAG. Para todos os organismos, pode-se observar que o tratamento biológico reduziu a toxicidade do lixiviado bruto, provavelmente, devido à remoção de nitrogênio na forma de amônia. As respostas de sensibilidade dos organismos-teste utilizados foram diferenciadas em relação aos compostos presentes no lixiviado, principalmente aos produzidos após a coagulação química e adsorção em CAG.

**Palavras-chave:** Ecotoxicidade. Lixiviado. Aterro sanitário.



## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil dentre as alternativas tecnológicas para disposição de resíduos sólidos o aterro sanitário é uma das mais utilizadas, principalmente devido ao seu baixo custo. Porém, no aterro sanitário, o processo de decomposição biológica dos resíduos combinado com a umidade natural destes e água da chuva, geram um subproduto altamente poluidor, denominado lixiviado ou percolado ou chorume.

O lixiviado de aterros sanitários é um líquido de coloração escura e pode apresentar como características altas concentrações de nitrogênio amoniacal, cloretos, matéria orgânica, compostos orgânicos de difícil degradação, como por exemplo, as substâncias húmicas e eventualmente, metais. Devido as suas características, este requer tratamento adequado para que os valores dos seus parâmetros físicos, químicos e biológicos atendam aos limites estabelecidos pelas legislações vigentes e não cause impactos ao meio ambiente.

As técnicas de tratamento comumente empregadas não asseguram a qualidade do efluente em relação à toxicidade, impondo-se dessa forma a necessidade de seu controle, de forma que este não cause efeitos tóxicos de natureza aguda ou crônica ao meio ambiente.

Os ensaios de ecotoxicidade foram introduzidos na Resolução 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. No Capítulo IV desta resolução, no que diz respeito às condições e padrões de lançamento de efluentes, é estabelecido nos § 1 e 2 do Artigo 34, que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos.

Diante deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito crônico em *Pseudokirchneriella subcapitata* e o efeito agudo em *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Artemia salina* para caracterização complementar de lixiviado proveniente de aterro sanitário antes e após diferentes tipos de tratamento biológico, físico e químico.



## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do trabalho foi utilizado o lixiviado proveniente do aterro sanitário da cidade de Rolândia (PR) que está em operação desde 2003 e caracteriza-se pela sua recalcitrância, apresentando baixa relação DBO/DQO e elevados valores de cor, DQO e concentração de nitrogênio. Para a obtenção dos lixiviados tratados, este foi submetido aos seguintes tratamentos:

- Tratamento preliminar por *stripping* de amônia seguido de tratamento biológico por lodos ativados em bateladas sequenciais e escala piloto;
- Pós-tratamento por coagulação-floculação-sedimentação – CFS utilizando o cloreto férrico como coagulante químico em reatores estáticos e escala de bancada;
- Pós-tratamento por adsorção em carvão ativado granular – CAG com escoamento contínuo e escala de bancada.

A caracterização do lixiviado bruto antes e após tratamentos foi realizada segundo os parâmetros físico-químicos descritos em APHA, AWWA, WEF (2005) e a análise de nitrato foi realizada de acordo com o método proposto por Cataldo (1975).

O lixiviado bruto e os lixiviados produzidos após cada tratamento foram submetidos aos ensaios crônicos de ecotoxicidade utilizando *Pseudokirchneriella subcapitata* e ensaios agudos de ecotoxicidade utilizando *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Artemia salina* como organismos-teste.

As amostras foram previamente filtradas em membrana com porosidade média de 0,45µm ME25 - *Schleicher & Schuell* e mantidas a -20°C até a realização dos ensaios.

Para avaliar a influência de metais (Fe e outros), provenientes do processo de coagulação química, os ensaios de ecotoxicidade para os lixiviados produzidos após este pós-tratamento foram realizados com e sem adição de solução de ácido etilenodiaminotetracético - EDTA, para complexação de metais para concentração de até 30 mg.L<sup>-1</sup>. As amostras foram codificadas de acordo com a Tabela1:



Tabela 1 - Códigos das amostras utilizadas nos ensaios de ecotoxicidade

Nome da amostra	Código
Lixiviado bruto	LIX
Lixiviado pré-tratado por <i>stripping</i> seguido de tratamento biológico	BIO
Lixiviado pós-tratado por CFS sem EDTA	CFS
Lixiviado pós-tratado por CFS com EDTA	CFSE
Lixiviado pós-tratado por adsorção em CAG sem EDTA	CAG
Lixiviado pós-tratado por adsorção em CAG com EDTA	CAGE

## 2.1 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE EM *P. SUBCAPITATA*

O protocolo utilizado para a realização dos ensaios em *P. subcapitata* foi baseado na metodologia proposta por Blaise *et al.* (2000). A validade dos testes para este ensaio de ecotoxicidade foi condicionada às seguintes premissas: o coeficiente de variação de cinco amostras controle com tempo de exposição igual a 72 horas, não pode exceder a 40%; e a densidade celular nos frascos de controle deve aumentar por um fator de no mínimo 16 ( $1,16 \times 10^5$  cél.mL<sup>-1</sup>).

Para o ensaio, as diferentes concentrações das amostras de lixiviados diluídas com solução tampão de bicarbonato de sódio, foram preparadas em vials de 5 mL contendo 2,5 mL de volume total, onde populações estimadas de *P. subcapitata* da ordem de  $1,04 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> foram expostas. Estes frascos permaneceram vedados com filme plástico transparente e incubados sob luz contínua por 72 h e a uma temperatura de 25°C sobre mesa agitadora.

Após este período, foi avaliada a toxicidade por meio da % de inibição realizando-se a contagem das células com auxílio de microscópio óptico, em câmara de Neubauer e os resultados foram tratados no programa estatístico *Trimmed Spearman-Kärber* (Hamilton *et al.*, 1977) com intervalo de confiança de 95% e expressos em concentração efetiva média que causa um efeito crônico de inibição a 50% dos organismos após 72 h - CE50<sub>72h</sub> de exposição.

## 2.2 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE EM *C. DUBIA* E *D. MAGNA*

Os ensaios de ecotoxicidade utilizando *Ceriodaphnia dubia* e *Daphnia magna* foram baseados seguindo as normas padronizadas: ABNT, 2005 - NBR 13373 para *C. dubia* e da ABNT, 2004 - NBR 12713 para *D. magna* e que consistiram na exposição de 5 neonatas com idade entre 6 e 24h para diferentes diluições das amostras de lixiviados com água reconstituída para volume total de 10 mL em placas de cultivo celular em polipropileno.(TPP). Para cada concentração da amostra e controle negativo (água reconstituída para *C. dubia* e meio M4 para *D. magna*) foram feitas 3 réplicas. Os experimentos foram mantidos na temperatura controlada de 22°C, sem iluminação e sem alimentação.

No início e final dos testes foram realizadas as medidas dos parâmetros de pH, condutividade e dureza. Após o período de exposição foi realizada a contagem dos organismos imóveis ou mortos em estereoscópio (Motic - SMZ140 FBLED) e seus resultados foram expressos como concentração efetiva mediana da amostra que causa efeito a 50% da população exposta após 24h – CE50<sub>24h</sub> e 48h – CE50<sub>48h</sub> obtidas por cálculo estatístico usando o programa *Trimmed Spearman-Kärber* com intervalo de confiança de 95% (Hamilton et al. 1977). O ensaio foi validado se a porcentagem de organismos imóveis ou mortos no controle negativo resultasse inferior a 10% (ABNT, 2004).

### 2.3 ENSAIO DE ECOTOXICIDADE EM *A. SALINA*

Devido à inexistência de um protocolo padronizado para ensaio de ecotoxicidade em *A. salina*, os testes foram baseados na norma da Petrobrás N-2588 (1996) com adaptações após testes preliminares, sobre o comportamento desse organismo em função da variação de alguns parâmetros e condições.

De acordo com os resultados obtidos foi verificado que o teste deve ser realizado com o ajuste do pH das amostras para valores entre 8,0 - 9,0 além de manter condição mínima de 10% de solução salina para que não haja comprometimento na interpretação dos resultados em relação à toxicidade da amostra testada.

Para os ensaios em *A. salina*, a eclosão dos ovos de *A. salina* (de alta eclosão da Maramar Aquacultura Com. Imp. Exp. Ltda – ME) foi feita com água do mar artificial. Em



seguida, os ovos juntamente com água de mar artificial foram colocados em um recipiente retangular de material plástico dividido no centro por uma placa contendo microperfurações uniformemente distribuídas. Os ovos foram incubados por 48 horas, a uma temperatura de 27 a 30°C, deixando-se o recipiente sob uma iluminação de 60W, de maneira que apenas um dos lados do recipiente ficasse iluminado, após o impedimento da passagem de luz em um dos compartimentos com papel alumínio, o que permite a migração das larvas por fototropismo.

As amostras para o ensaio foram preparadas em concentrações pré-estabelecidas em tubos de ensaio contendo 5 mL de volume total e com o auxílio de uma pipeta de Pasteur adicionou-se de 10 larvas de *A. salina*/tubo. Estes foram mantidos sob iluminação a uma temperatura de 27-30°C por 24 horas. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata. Foram preparados 4 tubos brancos (controle negativo) e 4 tubos contendo dicromato de potássio em meio salino com concentração de 45 mg.L<sup>-1</sup> (controle positivo). Após o período de 24 horas, as larvas mortas e vivas foram contadas e os resultados foram expressos em concentração letal mediana - CL50<sub>24h</sub> por cálculo estatístico usando o programa *Trimmed Spearman-Kärber* (Hamilton *et al.*, 1977) com intervalo de confiança de 95%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao tratamento físico-químico de CFS em escala de bancada com a utilização do cloreto férrico como coagulante químico e mediante uso de técnica de planejamento fatorial de experimentos para otimização das variáveis: dosagem de coagulante e pH de coagulação, este apresentou resultados satisfatórios de remoção de cor verdadeira, DQO e COT do lixiviado, alcançando remoções de:

- 96% de cor verdadeira (valor residual de 140 uH), 85% de DQO (valor residual de 303 mg.L<sup>-1</sup>) e 77% de COT (valor residual de 122 mg.L<sup>-1</sup>);

Já em relação ao pós-tratamento por adsorção em CAG, este apresentou remoções de:

- 100% de cor verdadeira, 76% de DQO (valor residual de 71 mg.L<sup>-1</sup>) e 68% de COT (valor residual de 39 mg.L<sup>-1</sup>).



A Figura 1 ilustra o lixiviado bruto e os lixiviados produzidos após os tratamentos realizados.

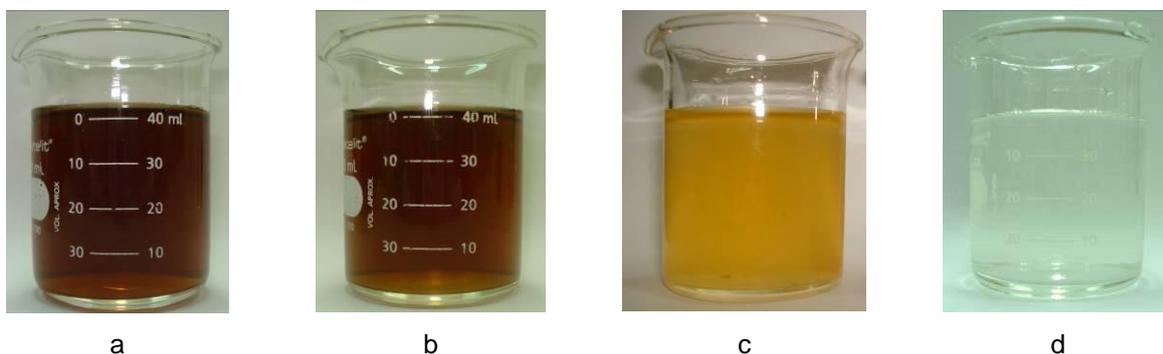


Figura 1 – Fotos do LIX (a), BIO (b), CFS na condição otimizada(c) e CAG (d)

Para caracterização do lixiviado antes e após tratamentos (Tabela 2), as análises dos parâmetros foram realizadas de acordo com o APHA, AWWA, WEF (2005), exceto a análise de nitrito que foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cataldo (1975).



Tabela 1 - Caracterização físico-química do lixiviado bruto e após os tratamentos e % de remoção

Parâmetro	LIX	BIO	% remoção após tratamento biológico	CFS	% remoção após CFS	CAG	% remoção após adsorção em CAG
pH <sup>1</sup>	9,1	9,7	-	4,0	-	-	-
Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	4238	1401	67	-	-	-	-
Cor verdadeira (uH)	4180	3386	19	140	96	0	100
NKT <sup>2</sup> (mg N-NH <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	997	-	-	-	-	-	-
N-amoniacal (mg N-NH <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	859	12	98	-	-	-	-
Nitrito (mg N-NO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	0,1	0,2	-	-	-	-	-
Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )	0	2	-	-	-	-	-
Cloreto (mg.L <sup>-1</sup> )	-	2744	-	4041	-	4125	-
DBO <sup>3</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	55	-	-	-	-	-	-
DQO <sup>4</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	1819	2022	-	303	85	71	76
COT <sup>5</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	813	547	33	122	77	39	68
ST <sup>6</sup> (mg.L <sup>-1</sup> )	6556	8174	-	-	-	-	-

- não determinado

(1) Potencial hidrogeniônico, (2) Nitrogênio Kjeldah Total, (3) Demanda Bioquímica de Oxigênio, (4) Demanda Química de Oxigênio; (5) Carbono orgânico total; (6) Sólidos totais

No capítulo IV da Resolução nº 357/05 do CONAMA referente às condições e padrões de lançamento de efluentes, é estabelecido nos § 1 e 2 do artigo 34 que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados utilizando organismos aquáticos. Assim, é de fundamental importância que as pesquisas no setor de saneamento sejam desenvolvidas associando as técnicas de tratamento, as análises físicas e químicas e os ensaios de ecotoxicidade, pois a avaliação deve ser feita de forma complementar.

Nos ensaios de ecotoxicidade crônica em *P. subcapitata* avaliou-se o efeito de inibição após 72h de exposição. Já nos ensaios de ecotoxicidade aguda em *C. dubia*, *D. magna* e *A. salina* foram avaliados os efeitos de imobilidade e letalidade após 24 e 48h de exposição para *C. dubia* e *D. magna* e de 24h de exposição para *A. salina*.



Considerando-se os valores de CE50<sub>72h</sub> em *P. subcapitata*, CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> em *C. dubia* e *D. magna* e CL50<sub>24h</sub> em *A. salina* do lixiviado bruto pode-se observar pela Figura 2 e 3 que após tratamento preliminar por *stripping* de amônia seguido de tratamento biológico por lodos ativados a toxicidade foi reduzida de valores entre 0,9 e 8,0 para valores entre 17,4 e 30,1. Este fato pode estar relacionado à presença de nitrogênio na forma de amônia, tóxica aos organismos e presente em concentrações de 253 mg.L<sup>-1</sup> no lixiviado bruto e de remoção de 100% no lixiviado após tratamento biológico, comprovando assim a eficiência desse tipo de tratamento.

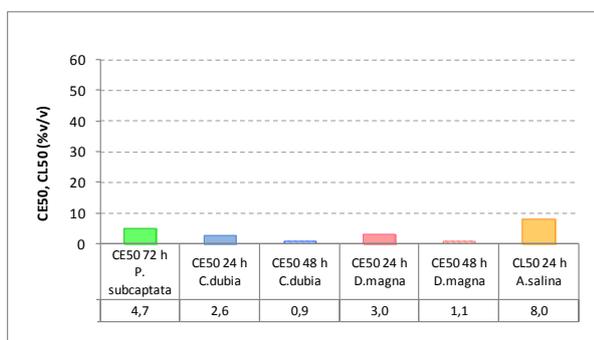


Figura 2 – Valores de CE50 e CL50 do LIX que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

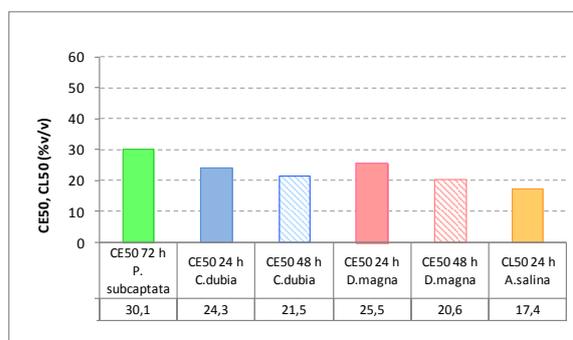


Figura 3 – Valores de CE50 e CL50 do BIO que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

No entanto, apesar da elevada eficiência do pós-tratamento por CFS em relação à remoção de cor aparente e verdadeira e DQO pode-se observar pela Figura 4 que a toxicidade do lixiviado após este tratamento aumentou para valores de CE50<sub>72h</sub> em *P. subcapitata*, CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> em *C. dubia* e *D. magna* e CL50<sub>24h</sub> em *A. salina* que variaram entre 0,2 e 39,3. Este aumento de toxicidade pode estar associado aos produtos químicos empregados na coagulação química e aos residuais de metais tais como Fe e cloretos provenientes do coagulante químico (cloreto férrico) utilizado durante este pós-tratamento

Comparando-se os resultados obtidos após o pós-tratamento por CFS e por adsorção em CAG, pode-se verificar pela Figura 5, que mesmo com elevada eficiência em relação à remoção de cor aparente e verdadeira, DQO e COT não houve remoção substancial da toxicidade, uma vez que os valores de CE50<sub>72h</sub> em *P. subcapitata*, CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> em *C. dubia* e *D. magna* e CL50<sub>24h</sub> em *A. salina* resultaram entre 0,6 e 54,2.



Estes resultados mostram que a adsorção em CAG não foi eficiente na remoção dos compostos que conferem toxicidade ao lixiviado, possivelmente os residuais de cloretos provenientes do coagulante químico (cloreto férrico) utilizado, uma vez que houve remoção substancial da matéria orgânica quantificada pelo parâmetro de COT.

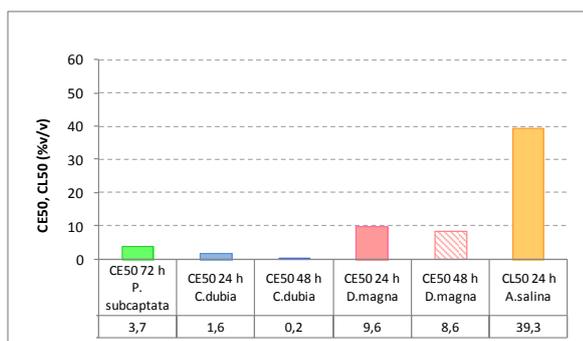


Figura 4 – Valores de CE50 e CL50 do CFS que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

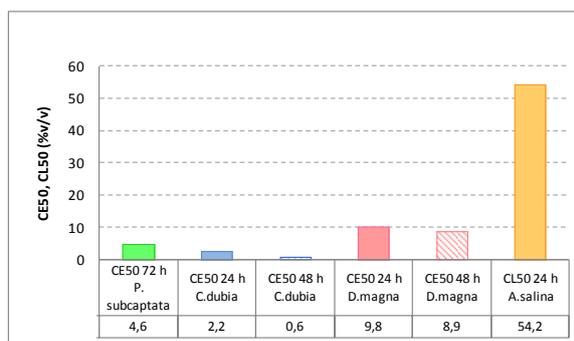


Figura 5 – Valores de CE50 e CL50 do CAG que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

Nos lixiviados produzidos após o pós-tratamento por CFS e por adsorção em CAG foram adicionados EDTA para complexação de metais para concentração de até  $30 \text{ mg.L}^{-1}$ , tendo sido observado de acordo com as Figuras 6 e 7 que para ambos os lixiviados a toxicidade diminuiu em relação aos lixiviados que não receberam a adição de EDTA. Contudo, essa redução não foi relevante uma vez que os valores de CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> em *C. dubia* e *D. magna* variaram entre 4,7 e 2,1 e 5,7 e 4,4, respectivamente para lixiviados após CFS e os valores de CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> em *C. dubia* e *D. magna* variaram entre 8,6 e 5,0 e 12,3 e 9,6, respectivamente para lixiviados após adsorção em CAG, indicando que a diminuição da toxicidade com a neutralização dos metais não foi relevante.

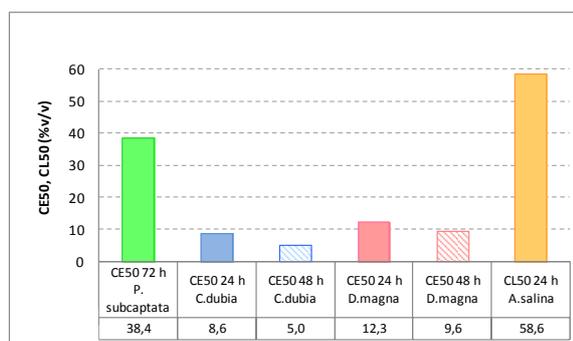
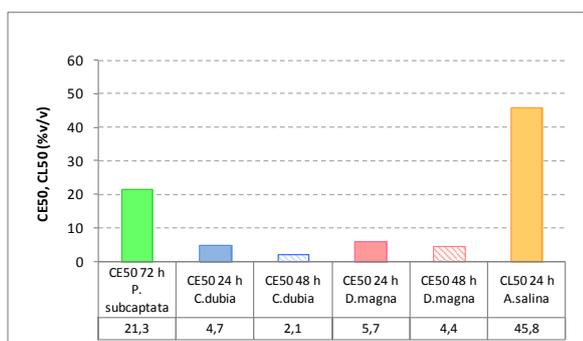




Figura 6 – Valores de CE50 e CL50 do CFSE que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

Figura 7 – Valores CE50 e CL50 do CAGE que causaram 50% de mortalidade/imobilidade aos organismos-teste

Por outro lado, a resposta observada em *P. subcapitata* e *A. salina* revelou que a toxicidade dos lixiviados produzidos após o pós-tratamento por CFS e por adsorção em CAG com adição de EDTA diminuiu consideravelmente, o que comprova que os compostos que conferem toxicidade são diferentes para cada organismo-teste, ou seja, as respostas de sensibilidade diferem para cada um.

Pelos ensaios pode-se observar que o ensaio de ecotoxicidade em *Artemia salina* contrariou as respostas obtidas pelos demais organismos-teste. Pode-se verificar que a toxicidade do lixiviado bruto foi reduzida gradativamente após cada tratamento apresentando valores de  $CL_{50_{24h}}$ : 8,0; 17,4; 39,3 e 54,2 para o lixiviado bruto, após tratamento biológico, pós-tratamento por CFS e por adsorção em CAG, respectivamente.

Após a complexação parcial dos metais com adição de EDTA, foram obtidos valores de  $CL_{50_{24h}}$ : 45,8 e 58,6 para os lixiviados produzidos após o pós-tratamento por CFS e por adsorção em CAG, respectivamente, sugerindo assim que toxicidade foi reduzida a cada tratamento. Esses resultados inferem que a sensibilidade da *A. salina* difere dos demais, fato que pode estar relacionado por esse organismo ser de origem marinha e ser mais resistente ao cloreto, possível agente tóxico à *D. magna* e *C. dubia* que são organismos de água doce.

#### 4 CONCLUSÃO

Através da realização dos ensaios de ecotoxicidade e de seus valores de  $CE_{50_{72h}}$  em *P. subcapitata*,  $CE_{50_{24h}}$  e  $CE_{50_{48h}}$  para *C. dubia* e *D. magna* e  $CL_{50_{24h}}$  para *A. salina*, pode-se constatar que o lixiviado tratado biologicamente, apresentou uma menor toxicidade em comparação com o lixiviado bruto, o que demonstra a eficiência do tratamento biológico para remoção de nitrogênio na forma de amônia tóxica aos organismos.



Em relação aos lixiviados produzidos no tratamento por CFS a toxicidade em *P. subcapitata*, *C. dubia* e *D. magna* foi aumentada, provavelmente devido aos residuais de metais e cloretos provenientes do coagulante químico (cloreto férrico) utilizado durante o pós-tratamento.

O lixiviado produzido no pós-tratamento por adsorção em CAG, não apresentou remoção substancial da toxicidade e, portanto este tratamento não foi eficiente na remoção dos compostos que conferem toxicidade ao lixiviado, possivelmente os residuais de cloretos em *P. subcapitata*, *C. dubia* e *D. magna*.

Dentre os organismos-teste utilizados, a *A. salina* apresentou respostas atípicas em relação aos demais organismos e a toxicidade do lixiviado bruto foi reduzida gradativamente após cada tratamento empregado.

## REFERÊNCIAS

APHA, AWWA, WEF. **Standard Methods for the examination of water & wastewater**. 21st Edition, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). **NBR 13373**. São Paulo, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. Ecotoxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). **NBR 12713**. São Paulo, 2004.

BLAISE, C.; FORGET, G.; TROTTIER, S. **Toxicity screening of aqueous samples using a cost-effective 72-h exposure *Selenastrum capricornutum* assay**. Journal of Environmental Toxicology. New York, v. 15, p. 352-359, 2000. Special Issue: Watertox Bioassays.

CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. **Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid**. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.6, p.71-80, 1975.



Periódico Eletrônico

# Fórum Ambiental

da Alta Paulista

ISSN 1980-0827  
Volume 9, Número 11, 2013

Saúde, Saneamento e  
Meio Ambiente



CONAMA nº 357. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a Classificação das Águas Doces, Salobras e Salinas do Território Nacional. Brasília, 2005.

HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. (1977). **Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentration in Toxicity Bioassays.** Environmental Science & Technology, Easton, v.11, n.7, p.714-719.

Petrobrás N-2588: **Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemia sp.*** CONTEC - Comissão de normas técnicas, 1996.