

## II-085 - TESTE DE TOXICIDADE PARA AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE UM SISTEMA COMBINADO NO TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO CONTENDO FORMALDEÍDO

### Angela dos Santos Barretto<sup>(1)</sup>

Bióloga Marinha (FAMATH), Mestre em Hidráulica e Saneamento (EESC/USP), Doutora em Hidráulica e Saneamento (EESC/USP). Atualmente é Pesquisadora Colaboradora do Depto. de Saneamento e Ambiente da FEC/UNICAMP.

### Edson Aparecido Abdul Nour

Engenheiro de Alimentos (UNICAMP), Tecnólogo em Saneamento (UNICAMP), Mestre em Engenharia Civil (FEC/UNICAMP), Doutor em Hidráulica e Saneamento (EESC/USP). Atualmente é Professor Associado do Depto de Saneamento e Ambiente da FEC/UNICAMP.

### Eloisa Maria dos Reis dos Santos

Tecnóloga em Saneamento Ambiental (UNICAMP). Mestranda em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente da FEC/UNICAMP.

### Fernando Pena Candello

Biólogo (UNESP/Rio Claro), Especialista em Gestão Ambiental na Agroindústria (UFLA). Atualmente é Biólogo no Laboratório de Saneamento da FEC/UNICAMP.

### Ligia Maria Domingues

Tecnóloga em Saneamento (UNICAMP), Mestre em Engenharia Civil (FEC/UNICAMP). Atualmente é Tecnóloga Sanitarista no Laboratório de Saneamento da FEC/UNICAMP.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Albert Einstein, 951 – Cidade Universitária Zeferino Vaz - Campinas - SP - CEP: 13083-852 - Brasil - Tel: + 55 (19) 3521-2379 - e-mail: [abarreto@fec.unicamp.br](mailto:abarreto@fec.unicamp.br)

## RESUMO

Os testes de toxicidade aquática utilizando organismos vivos padronizados são imprescindíveis para avaliar o potencial poluidor de diversas substâncias em concentrações inferiores aos limites de detecção de metodologias analíticas, avaliando o potencial de toxicidade e podendo identificar efeitos deletérios comportamentais e/ou fisiológicos nos organismos. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência do efluente de um sistema de tratamento combinado: filtro anaeróbio (FA), seguido de biofiltro aerado submerso (BAS) e decantador, por meio de testes de toxicidade utilizando a espécie *Daphnia similis* (Crustácea: Cladocera) e *Girardia tigrina* (Platyhelminthes: Tricladida). O experimento foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Saneamento da FEC/UNICAMP. Os 3 pontos de coleta foram: efluente bruto mais formaldeído, saída do FA e saída do decantador, correspondendo ao efluente tratado pelo sistema. A água residuária que foi utilizada neste estudo apresentava características condizentes às de um esgoto sanitário de média concentração em termos de matéria orgânica, e os valores das concentrações adicionadas de formaldeído foram de 200 e 400 mg/L. As espécies estudadas indicaram serem organismos-teste adequados a estudos de toxicidade de esgoto sanitário contendo formaldeído tratado pelo sistema combinado alvo do estudo. O efluente do sistema combinado não apresentou toxicidade aguda para *Daphnia similis* nas concentrações de 200 e 400 mg/L de formaldeído. O efluente do sistema combinado apresentou toxicidade aguda pouco significativa para *G. tigrina* somente em 1 ensaio na concentração de 200 mg/L e em 1 ensaio na concentração de 400 mg/L de formaldeído. O sistema combinado, na configuração utilizada neste estudo, foi considerado adequado à redução de toxicidade para as concentrações de formaldeído presentes. Estudos que utilizam efluentes reais, mais do que aqueles com substâncias isoladas, fornecem resultados próximos à realidade, sendo uma informação importante e necessária para a avaliação de desempenho de um sistema de tratamento de efluentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sistema combinado, esgoto sanitário, formaldeído, ensaios de toxicidade.

## INTRODUÇÃO

Os testes de toxicidade aquática utilizando organismos vivos padronizados são imprescindíveis para avaliar o potencial poluidor de diversas substâncias presentes no meio, muitas vezes em concentrações inferiores aos limites de detecção de metodologias analíticas. Tais testes permitem avaliar o potencial carcinogênico, mutagênico ou teratogênico de determinada substância tóxica, além de permitir identificar efeitos deletérios comportamentais e/ou fisiológicos nos organismos.

O estudo toxicológico, além disso, implica em detalhamento do potencial tóxico de determinada substância em relação a determinado organismo e ao meio onde vive, fornecendo valiosa informação de suporte para adoção de medidas de preservação e restauração dos ambientes aquáticos.

O uso de testes de toxicidade em espécies padronizadas é importante para caracterizar a sensibilidade de diversos organismos a substâncias presentes no ambiente de forma prática e reproduzível. Como diferentes regiões apresentam diversas condições climáticas, edáficas, químicas e físicas, não se podem generalizar as respostas de um organismo a diversas regiões e o uso de espécies regionais é recomendado para avaliar o impacto ambiental e estabelecer padrões para as condições específicas de cada área.

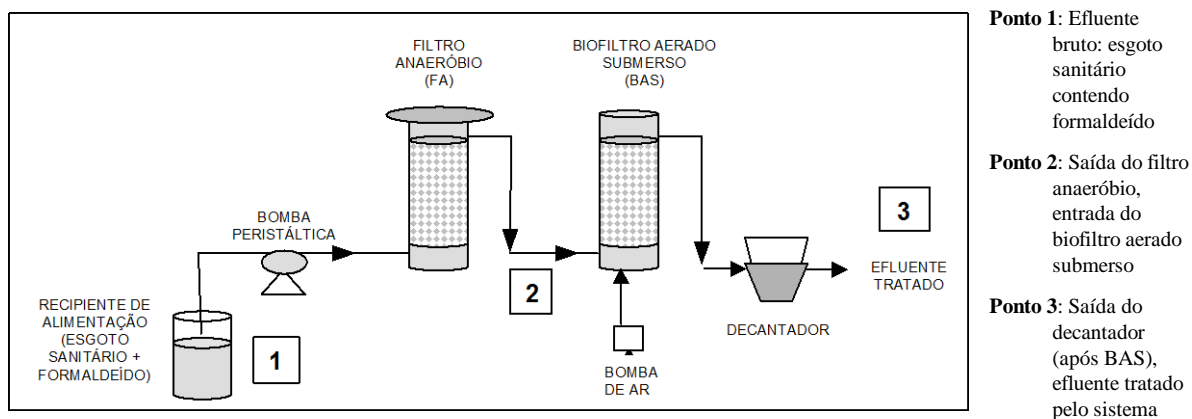
O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência do efluente de um sistema combinado: filtro anaeróbio, seguido de biofiltro aerado submerso e decantador, por meio de testes de toxicidade utilizando a espécie *Daphnia similis* (Crustácea: Cladocera) e *Girardia tigrina* (Platyhelminthes: Tricladida).

## MATERIAL E MÉTODOS

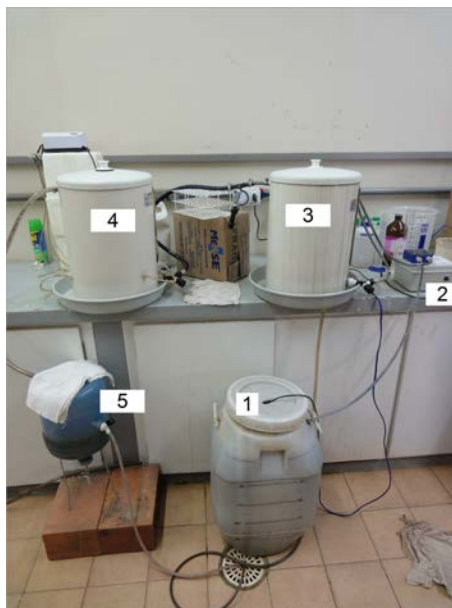
### 1 – Descrição do sistema:

O experimento está localizado e foi desenvolvido nas dependências do Laboratório de Saneamento, LABSAN da FEC/UNICAMP. No LABSAN está montado o sistema de tratamento de efluentes, constituído por um reator anaeróbio de leito fixo e fluxo ascendente, comumente chamado de filtro anaeróbio (FA), seguido por um biofiltro aerado submerso (BAS) e na sequência um decantador. O BAS é um reator aeróbio que também apresenta biofilme de leito fixo e fluxo ascendente. Essa concepção de sistema de tratamento vem sendo alvo de vários estudos quanto à eficiência de remoção de matéria orgânica, nitrificação, remoção de compostos tóxicos e denitrificação (CASTAGNATO, 2005; BATISTA, 2007).

O esgoto sanitário que foi utilizado neste estudo, e no qual foram adicionados os diferentes valores de concentração de formaldeído, é aquele gerado nas dependências da FEAGRI, Faculdade de Engenharia Agrícola, localizada no Campus de Campinas da UNICAMP. Este efluente vem sendo utilizado em diversos projetos de pesquisa, apresentando características condizentes às de um esgoto sanitário de média concentração em termos de matéria orgânica. O esquema do sistema de tratamento encontra-se na Figura 1, na qual são identificados os pontos de coleta de amostras. Na Figura 2 é apresentada uma fotografia com uma visão geral de todas as unidades do sistema de tratamento utilizado no estudo.



**Figura 1:** Esquema do sistema combinado FA/BAS utilizado, em destaque os pontos de coleta de amostras.



**Figura 2: Sistema combinado de tratamento: (1) recipiente contendo o esgoto sanitário + formaldeído; (2) bomba peristáltica; (3) filtro anaeróbio (FA); (4) biofiltro aerado submerso (BAS); (5) decantador**

Os reatores constituintes deste sistema têm as seguintes dimensões: altura total de 42 cm, diâmetro de 30 cm, volume total de 20 L e volume útil de 17,6 L, cada. Os dois reatores têm fundos falsos perfurados, para a melhor distribuição do efluente, colocados a 4,5 cm do fundo. No BAS estão inseridas, na região abaixo do fundo falso, quatro pedras porosas, conectadas a compressores de ar utilizados em aquários, para o fornecimento de oxigênio. Cada reator foi preenchido com material suporte composto de anéis de Raschig de 1,5 cm de altura e 1,5 cm de diâmetro. O sistema foi operado do tempo de detenção hidráulica (TDH) de 8 horas em cada reator, totalizando 16 horas. Os valores de concentração de formaldeído adicionados no efluente bruto ao sistema foram de 200 e 400 mg/L.

## 2 – Análises físicas e químicas avaliadas nas amostras:

Foram realizadas análises físicas e químicas nas diluições do efluente antes e após a utilização nos ensaios de toxicidade: pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, temperatura, dureza e concentração de formaldeído. As análises seguiram os procedimentos descritos no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 1998) para as análises realizadas, exceto o Método 3500 (NIOSH, 1994) para a determinação de formaldeído.

## 3 – Espécies estudadas:

### 3a – *Daphnia similis*

O ensaio de toxicidade aguda (CE50/48h), conforme a norma técnica NBR 12713 (2009) ABNT, foi realizado com indivíduos jovens (com a 6 a 24 horas de vida) que foram submetidos a concentrações decrescentes do efluente tratado contendo formaldeído, por um período de 48 horas, com observação a cada 24 horas. Foram realizados ensaios em quadruplicata, utilizando-se 20 indivíduos por concentração, os quais foram colocados em béqueres com capacidade para 100 mL. Durante o ensaio os organismos foram mantidos sem alimentação, à temperatura de 20 °C, no escuro. Foi realizado controle também em quadruplicata.

### 3b – *Girardia tigrina*

Para a realização dos testes toxicológicos (CL50/96 h) foram separados grupos de 10 animais que tenham de 0 a 10 dias pós-eclosão. Cada grupo foi colocado em béqueres com capacidade para 100 mL com soluções de concentrações decrescentes de formaldeído contido no esgoto. Para cada concentração foi determinada a mortalidade de indivíduos, com observações a cada 24 horas até 96 horas; sempre realizando um teste controle. A partir dos dados obtidos foi determinada a CL50/96 h. O ensaio foi realizado em replicata para cada diluição e durante os testes os animais não foram alimentados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. - Concentração de 200 e 400 mg/L de Formaldeído:

#### 1a - *Daphnia similis*

Nas figuras 2 a 5 encontram-se os resultados obtidos para os ensaios realizados para a concentração de 200 mg/L de formaldeído e nas Figuras 6 a 9 os resultados obtidos para concentração de 400 mg/L de formaldeído. No eixo das abscissas estão representadas as replicatas realizadas para cada ponto de coleta, ou seja, **P1ini** e **P1fim** representam, respectivamente, a média das replicatas feitas para o Ponto 1 no início e no fim dos testes de toxicidade. Nomenclatura equivalente foi utilizada para **P2ini** e **P2fim** (ponto 2), para **P3ini** e **P3fim** (ponto 3), **Cini** e **Cfim** (controle) e **CESFini** e **CESFfim** (esgoto sem formol).

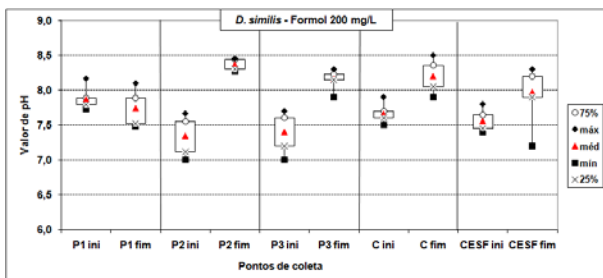


Figura 2: Valor de pH, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

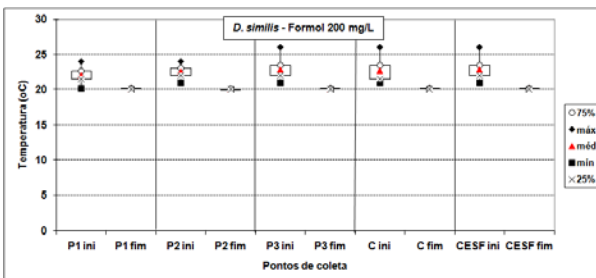


Figura 3: Valor de temperatura, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

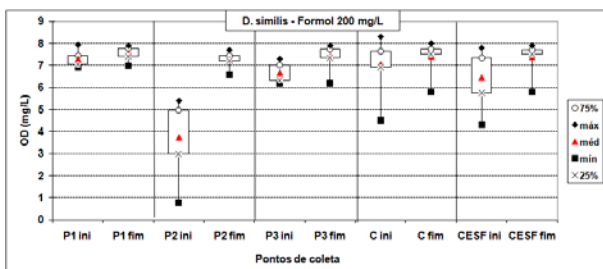


Figura 4: Concentração de oxigênio dissolvido, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

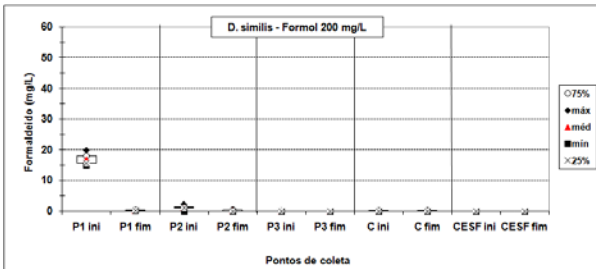


Figura 5: Concentração de formaldeído presente, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

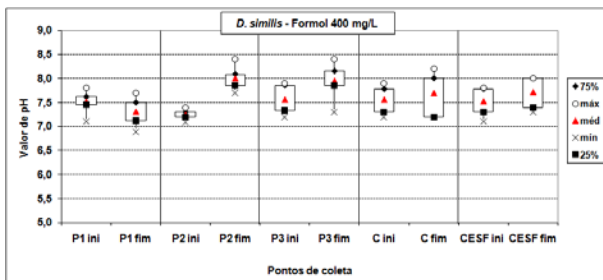


Figura 6: Valor de pH, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

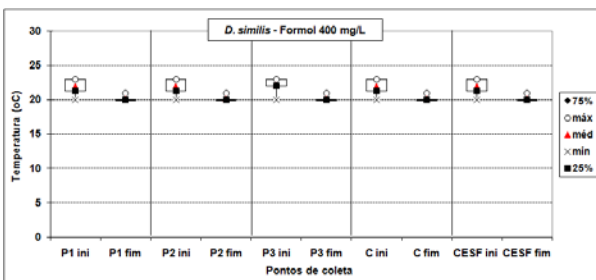


Figura 7: Valor de temperatura, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

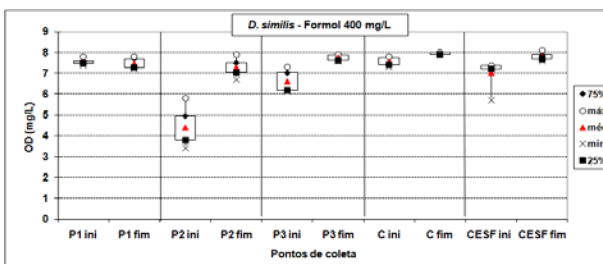


Figura 8: Concentração de oxigênio dissolvido, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

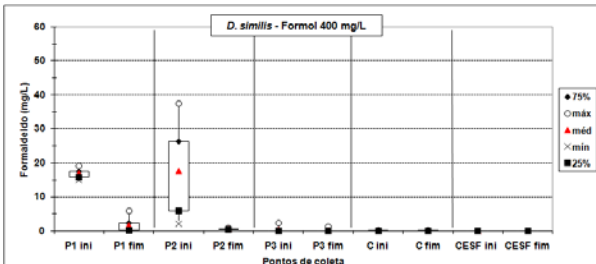


Figura 9: Concentração de formaldeído presente, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

As variáveis físicas e químicas avaliadas antes e após a realização dos ensaios, tanto para a concentração de 200 mg/L de formaldeído, quanto para a concentração de 400 mg/L, mesmo apresentando valores diferentes daqueles estabelecidos como ideais para o cultivo, não influenciaram diretamente nos resultados obtidos para CE50/48 h para *Daphnia similis*, com exceção da concentração de formaldeído. Nas figuras 10 a 13 encontram-se os resultados obtidos para CE50/48h para *D. similis*.

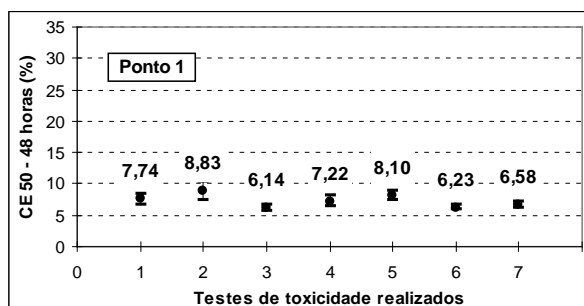


Figura 10: Resultados de CE50/48 h para *D. similis* no P1, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

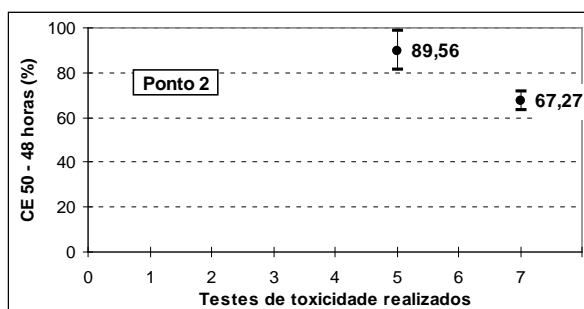


Figura 11: Resultados de CE50/48 h para *D. similis* no P2, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído  
 (OBS: testes sem valores no gráfico representam ausência de toxicidade aguda segundo o método estatístico utilizado)

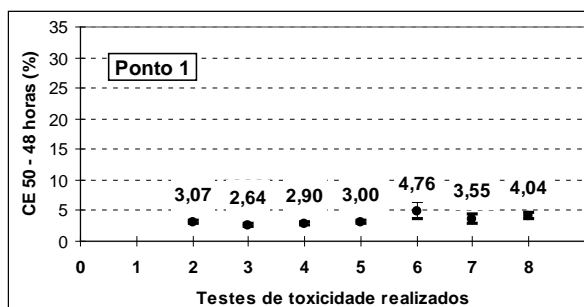


Figura 12: Resultados de CE50/48 h para *D. similis* no P1, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

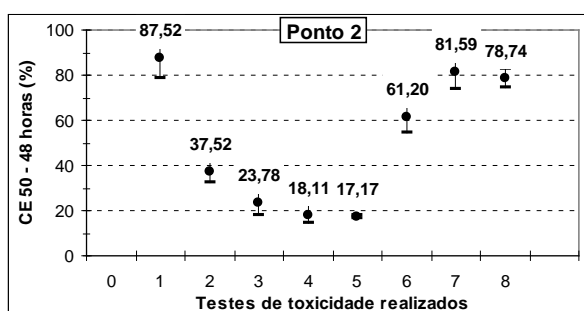


Figura 13: Resultados de CE50/48 h para *D. similis* no P2, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

Avaliando-se os resultados obtidos para o ponto P1 nas 2 concentrações estudadas, observa-se um decréscimo acentuado na CE50/48 h, para este organismo, devido ao aumento na concentração inicial de formaldeído. Entretanto, observando-se os resultados obtidos para a concentração de 200 mg/L de formaldeído a CE50/48h no P2 foi sempre superior a média de 67 %, e em vários ensaios o efluente deste ponto não apresentou toxicidade aguda para *D. similis*, indicando uma melhora significativa na qualidade do efluente causada principalmente pela diminuição efetiva da concentração de formaldeído.

Com relação à concentração de 400 mg/L, observa-se que apesar dos valores de CE50/48 h obtidos inicialmente foram baixos, contudo a melhora no desempenho do FA alcançada ao longo do tempo de operação proporcionou uma elevação destes valores a partir do 6º ensaio (Figura 13). Quando consideramos o sistema como um todo, o esgoto sanitário contendo formaldeído não apresentou toxicidade aguda em nenhum dos ensaios realizados para o ponto P3, reforçando assim a alta eficiência e a robustez do sistema de tratamento.

Os estudos encontrados na literatura sobre toxicidade de formaldeído e os catálogos de representantes do produto informam sobre dados de ensaios realizados com a espécie *Daphnia magna* como organismo-teste. Estudos com a espécie *D. similis*, estão voltados a testes de sensibilidade e testes com outras substâncias, como o estudo realizado por OSTI (2001) que avaliou a toxicidade do efluente de processo do diuranato de amônio encontrando valores de CL50/48 h entre 0,39 a 0,57 % da concentração do efluente. Segundo CETESB (1992), o valor para CL50 de 2,0 mg/L de formaldeído já é tóxica a *Daphnia sp.* Poucas são as informações existentes com *D. similis*, principalmente em trabalhos que utilizam o formaldeído como substância teste.

### 1b – *Girardia tigrina*

Nas figuras 14 a 17 e nas figuras 18 a 21 encontram-se os resultados obtidos para os ensaios realizados para a concentração de 200 e 400 mg/L de formaldeído.

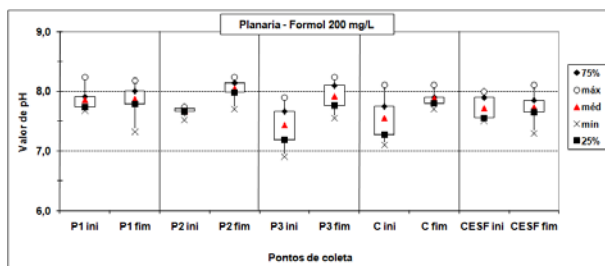


Figura 14: Valor de pH, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

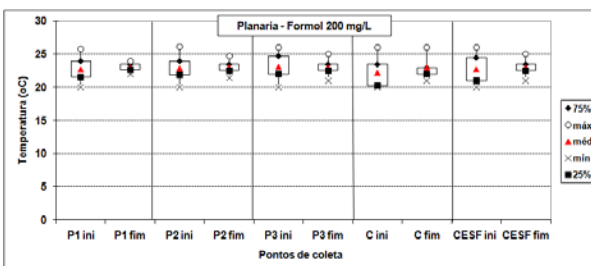


Figura 15: Valor de temperatura, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

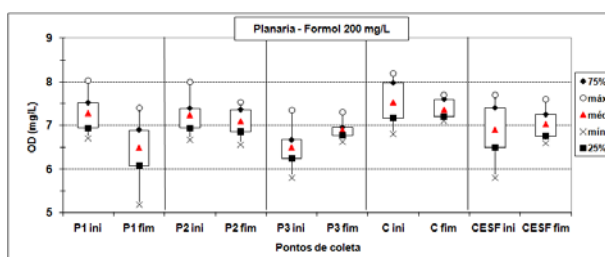


Figura 16: Concentração de oxigênio dissolvido, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

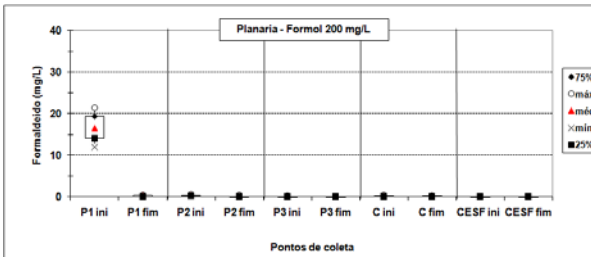


Figura 17: Concentração de formaldeído presente, com aplicação de 200 mg/L de formaldeído



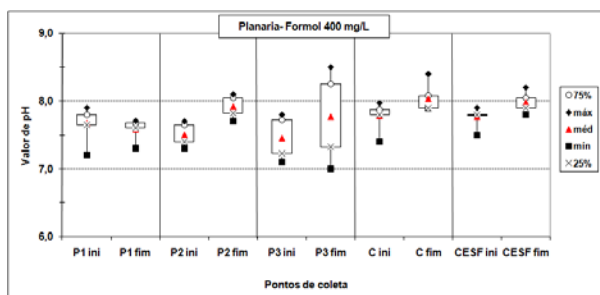


Figura 18: Valor de pH, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

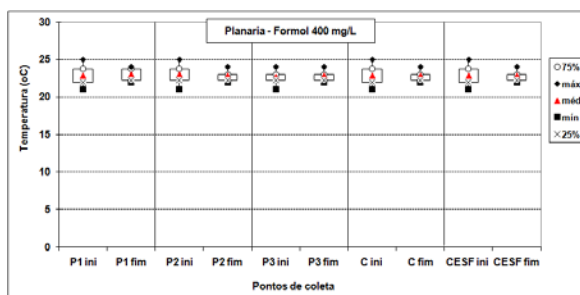


Figura 19: Valor de temperatura, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

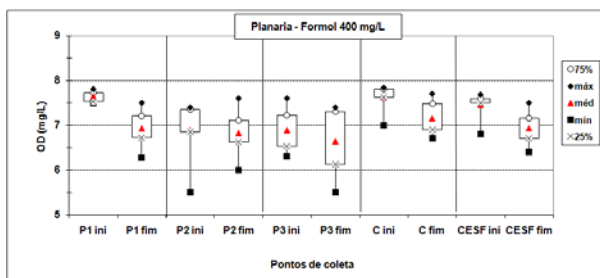


Figura 20: Concentração de oxigênio dissolvido, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

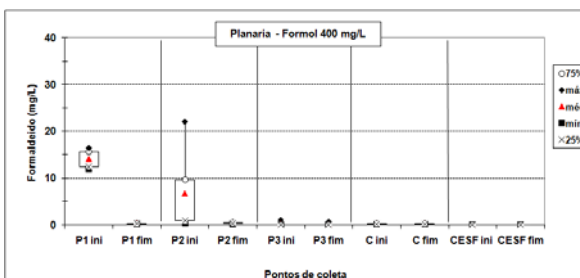
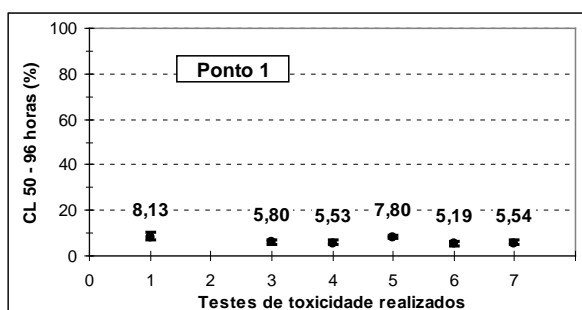


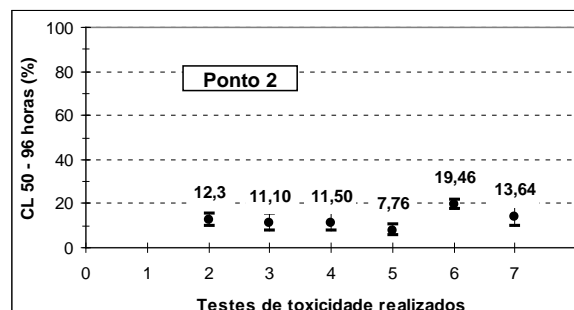
Figura 21: Concentração de formaldeído presente, com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

Os valores de pH, temperatura e OD (Figuras 14, 15, 16, 18, 19 e 20), estiveram dentro das faixas ótimas para cultivo da *G. tigrina* nas duas concentrações estudadas.

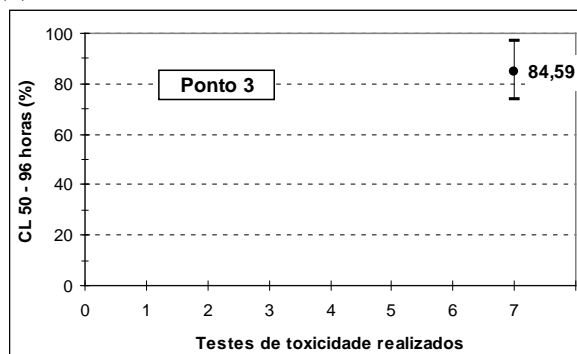
Nas Figuras 22 e 23 encontram-se os resultados obtidos para CL50/96 h para *G. tigrina*.



(a)



(b)



(c)

Figura 22: Resultados de CL50/96 h para *G. tigrina* com aplicação de 200 mg/L de formaldeído

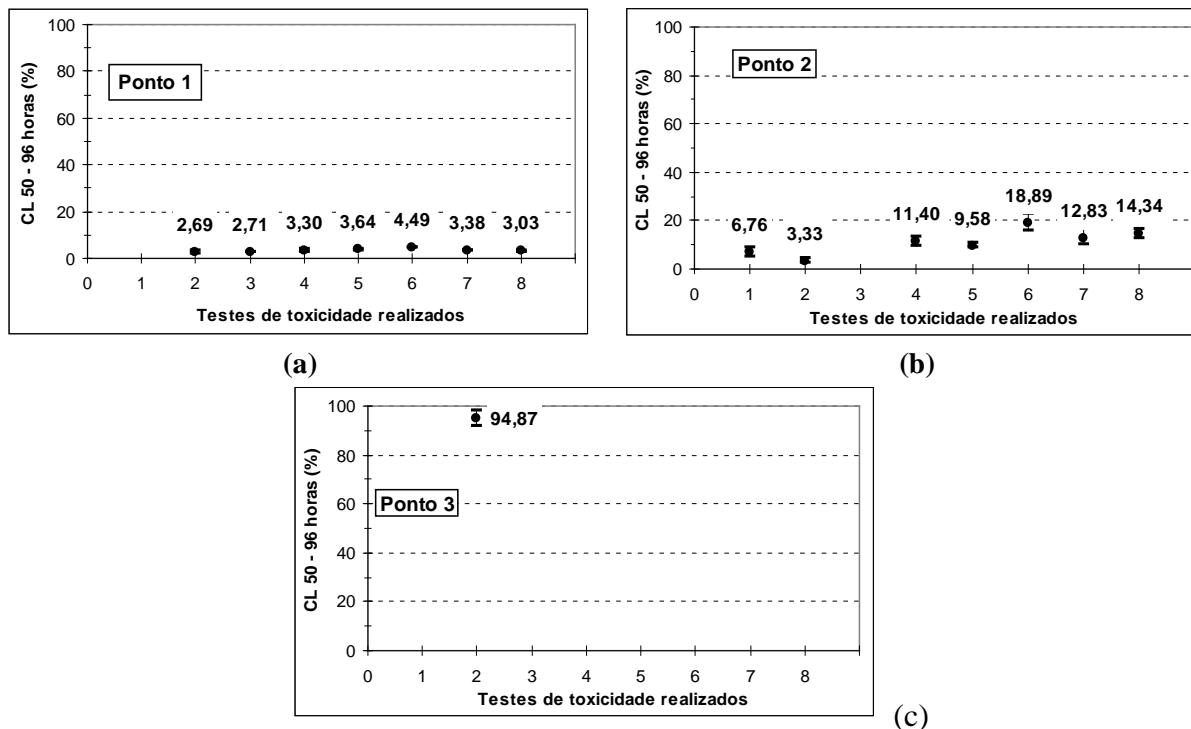


Figura 23: Resultados de CL50/96 h para *G. tigrina* com aplicação de 400 mg/L de formaldeído

Avaliando-se os resultados obtidos para o ponto P1 e P2 nas 2 concentrações de formaldeído estudadas, pode-se observar que não ocorreu uma diferença significativa nos valores de CL50/96 h para este organismo. No P1 e P2 os valores obtidos para CL50/96 h são muito baixos, indicando que a toxicidade é muito alta nas duas concentrações (Figuras 22a, 22b, 23a, 23b).

Com relação a P3, tanto para a concentração de 200 mg/L quanto para a de 400 mg/L foi verificada toxicidade somente nos ensaios 7º (200 mg/L) e 2º (400 mg/L) com valores respectivos de CL50/96 h de 84,59 % e de 94,87 % (Figuras 22c e 23c). O fato do efluente do P3 não apresentar toxicidade ou valores altos de CL50/96 h indica uma melhora significativa na sua qualidade, demonstrando assim a eficiência do sistema de tratamento.

Os estudos encontrados na literatura com ensaios de toxicidade utilizando formaldeído e os catálogos de representantes do produto não incluem a planária como organismo-teste. Estudos com a espécie *Girardia tigrina* estão voltados a testes de sensibilidade (PREZA & SMITH, 2001), biologia da espécie (VARA et al., 2008) e testes com outras substâncias como metais pesados (PREZZA, 1995) e efluentes de refinarias de petróleo (BARROS et al., 2006).

Poucas são as informações existentes com *G. tigrina* e estudos que utilizam o formaldeído como substância teste não foram encontrados, realçando a necessidade de resultados e estudos semelhantes ao desenvolvido neste trabalho.

## CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

As espécies estudadas indicaram serem organismos-teste adequados a estudos de toxicidade de esgoto sanitário contendo formaldeído tratado pelo sistema combinado alvo do estudo.

O efluente do sistema combinado não apresentou toxicidade aguda para *Daphnia similis* nas concentrações de 200 e 400 mg/L de formaldeído.



O efluente do sistema combinado apresentou toxicidade aguda pouco significativa para *G. tigrina*, somente em 1 ensaio na concentração de 200 mg/L e em 1 ensaio na concentração de 400 mg/L de formaldeído.

O sistema combinado na configuração utilizada neste estudo, foi considerado adequado para a redução de toxicidade, para as concentrações de formaldeído presentes.

Estudos que utilizam efluentes reais, quando comparados com aqueles que utilizam substâncias isoladas, fornecem resultados mais próximos à realidade, sendo uma fonte de informação importante e necessária para a avaliação de desempenho de um sistema de tratamento de efluentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas (2003). Água – Ensaio de Toxicidade aguda com *Daphnia similis Claus*, 1876 (Cladócera, Crustácea). NBR 12713. Rio de Janeiro. Brasil.
2. AMERICAN HEALTH ASSOCIATION, Microbiological examination. In: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th ed. APHA, AWWA, WEF, Washington, 1998.
3. BARROS, G. S.; ANGELIS, D. F.; FURLAN, L. T.; CORREA-JUNIOR, B. “Utilização de planárias da espécie *Dugésia* (*Girardia*) *tigrina* em testes de toxidade de efluentes de refinaria de petróleo”. J. Bras. Soc. Ecotoxicol., Curitiba, v.1, n 1, p.67-70, 2006.
4. BATISTA, V.M., “Sistema combinado aplicado ao tratamento de esgoto sanitário contendo formaldeído: desempenho e avaliação da biomassa”, Dissertação de Mestrado (FEC/UNICAMP), 101 p., 2007.
5. CASTAGNATO, R., “Tratabilidade de esgoto sanitário contendo formoldeído em um sistema combinado filtro anaeróbio-biofiltro aerado submerso”, Dissertação de Mestrado (FEC/UNICAMP), 141 p., 2005.
6. CASTAGNATO, R.; NOUR, E.A.A., “Tratabilidade de esgoto sanitário contendo formaldeído em um sistema combinado filtro anaeróbio-biofiltro aerado submerso”, XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Belo Horizonte, 2007.
7. CETESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. “Métodos de avaliação da toxicidade de poluentes a organismos aquáticos”. São Paulo: CETESB, 25 p., 1992.
8. NIOSH – National Institute for Occupational Safety and Health – Manual of analytical methods (NMAN): Method 3500(2) – formaldehyde, 4<sup>th</sup> ed, 1994.
9. OSTI, S. C. “Avaliação da toxicidade do efluente de diuranato de amônio proveniente da unidade de conversão do urânio do IPEN/CNEN/SP”. Dissertação (Mestrado). IPEN (Autarquia associada à USP), São Paulo, 2001.
10. PREZA, D. L. C. “*Girardia tigrina* (Girard, 1850) (Tubellaria: Tricladida: Pludicola): aspectos biológicos e seu emprego em testes de toxicidade”. Dissertação (Mestrado). Produção Aquática. Universidade Federal da Bahia, Salvador. 1995.
11. PREZA, D. L. C.; SMITH, D. H. “Use of newborn *Girardia tigrina* (Girard, 1850) in acute toxicity tests”. Ecotoxicology and Environmental Safety 50:1-3, 2001.
12. VARA, D. C.; ZANCHET, A. M.; LIZARDO-DAUDT, H. M. Embryonic development of *Girardia tigrina* (Girard, 1850) (Platyhelminthes, Tricladida, Pludicola). Brazilian Journal of Biology, V. 68, N0 4, 2008.