

II-193 - AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS SANITÁRIOS POR MEIO DE ENSAIOS DE ECOTOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA UTILIZANDO *Daphnia magna*

Germana de Paiva Pessoa

Química Industrial pela Universidade Federal do Ceará. Doutora em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela UFC. Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial B – CNPq.

Patrícia Moreira Silveira

Graduanda em Engenharia Química (UFC). Bolsista de Iniciação Científica.

José Gilmar da Silva do Nascimento

Engenheiro Químico pela UFC. Mestre em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela UFC. Bolsista de Desenvolvimento Tecnológico Industrial C – CNPq.

Patrícia Marques Carneiro

Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal do Ceará (IFCE). Mestre em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela UFC. Doutoranda em Engenharia Civil – Saneamento Ambiental pela UFC.

André Bezerra dos Santos⁽¹⁾

Doutor em Saneamento Ambiental pela Wageningen University - Holanda. Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental da Universidade Federal do Ceará.

Endereço⁽¹⁾: Campus do Pici, bloco 713. Pici. Fortaleza-Ceará-Brasil. CEP: 60.455-900 - Tel: (85) 3366-9490 - e-mail: andre23@ufc.br

RESUMO

Testes de ecotoxicidade são ferramentas importantes para avaliar a qualidade das águas e cargas poluidoras de efluentes, uma vez que somente as análises físico-químicas são insuficientes para avaliar o potencial de risco ambiental aos organismos aquáticos geralmente presentes nos corpos receptores de efluentes de Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs). Apesar de previsto em legislações ambientais, não se tem conhecimento do emprego de testes de ecotoxicidade em ETEs de esgoto sanitário localizadas no Estado do Ceará, onde se tem a problemática da baixa capacidade de diluição dos efluentes nos corpos receptores. O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a eficiência de tratamento de ETEs localizadas no estado do Ceará, utilizando como bioindicador o microcrustáceo *Daphnia magna*, a partir de testes de ecotoxicidade aguda e crônica. Foram avaliadas cinco ETEs, sendo quatro tipos de tecnologias, a saber: duas ETEs com lagoa facultativa seguida de lagoa de maturação (LF+LM1 e LF+LM2), lagoa facultativa (LF), lodos ativados seguido da etapa de cloração (LA+Cl) e reator de manta de lodo e fluxo ascendente seguido da etapa de cloração (UASB+Cl). Com relação à avaliação ecotoxicológica aguda, não foi detectada toxicidade no efluente proveniente da ETE LF+LM2, entretanto, nos efluentes da LF+LM1 e LF, a CE_{50-48h} máxima foi de 61% e 57%, respectivamente. O nível de toxicidade nos efluentes das ETE LA+Cl e UASB+Cl foi maior que o obtido nos afluentes. Provavelmente, o aumento de toxicidade deve-se à presença de cloro residual no efluente, uma vez que este era coletado após a etapa de cloração. Tratando-se de toxicidade crônica, foi detectado efeito significativo em termos de reprodução ($p < 0,05$) apenas no efluente proveniente da ETE LF+LM2 com CENO (concentração de efeito não observado) de 20% e CEO (concentração de efeito observado) de 30%. Nos efluentes provenientes das ETE LA+Cl e UASB+Cl, o valor de CEO para a avaliação de sobrevivência foi de 5%, evidenciando a elevada toxicidade. Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que existe uma necessidade de otimização dos parâmetros operacionais das ETEs com o objetivo de melhorar a eficiência de remoção de compostos tóxicos á organismos aquáticos.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicidade, *Daphnia magna*, esgoto sanitário.

INTRODUÇÃO

Testes de ecotoxicidade são ferramentas importantes para avaliar a qualidade dos efluentes, uma vez que somente as análises físico-químicas tradicionalmente realizadas não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e, portanto, são insuficientes para avaliar o potencial de risco ambiental aos organismos aquáticos geralmente presentes nos corpos receptores (HERNANDO *et al.*, 2005; COSTA *et al.*, 2008).

Em vários países testes ecotoxicológicos são utilizados no gerenciamento de esgotos sanitários por apresentarem vantagens particulares como proteger o tratamento biológico evitando que afluentes tóxicos reduzam a eficiência das ETEs. Como uma das maiores fonte de contaminação do ambiente aquático é o efluente gerado nos sistemas de tratamento de esgoto sanitário, existe a preocupação na realização dos testes de toxicidade crônica para avaliar os impactos nos organismos aquáticos em longo prazo de exposição (MENDONÇA *et al.*, 2009).

Dentre os cladoceros, as espécies do gênero *Daphnia* são as mais utilizadas em testes de toxicidade. Sua ampla distribuição geográfica, o importante papel que desempenham no zooplâncton, a reprodução partenogenética (a qual assegura uma uniformidade de resposta dos testes), o curto ciclo de vida com a produção de um alto número de neonatos, fazem os organismos deste gênero ideais para avaliação de toxicidade em nível mundial (GRANADOS *et al.*, 2004).

Daphnídeos são utilizados rotineiramente em toxicologia aquática devido a sua rápida reprodução, sensibilidade aos compostos químicos e função crítica em ecossistemas de água doce (BAIRD *et al.*, 1989). Na cadeia alimentar aquática, os cladoceros desenvolvem um papel intermediário fundamental entre os consumidores primários e peixes, e mudanças no seu ciclo de vida podem desencadear respostas no ecossistema aquático (BARBOSA *et al.*, 2008).

Apesar da relevância dos testes de toxicidade, a Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia (SETAC - Brasil), no ano de 2008, identificou somente quatro estados brasileiros que possuem legislação específica utilizando ensaios ecotoxicológicos para controle de lançamentos de efluentes, a saber: São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraná. Segundo a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico realizada em 2008 (IBGE, 2010) 74,4% dos municípios brasileiros utilizam rios como corpos receptores, evidenciando assim a importância da análise do impacto dos efluentes nesses corpos d'água.

Diante do exposto este trabalho visa contribuir para proteção dos recursos hídricos do Estado do Ceará, onde se tem a problemática da baixa capacidade de diluição dos efluentes, a partir da análise de eficiência de remoção de compostos tóxicos nas ETEs utilizando testes de ecotoxicidade como parâmetro de avaliação e dessa forma verificar o lançamento dos efluentes provenientes de ETEs em corpos d'água.

METODOLOGIA

Ensaio de ecotoxicidade aguda

A metodologia para cultivo e para realização dos ensaios seguiu a NBR 12713 / 2009 (Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda Método de ensaio com *Daphnia* spp). Para a alimentação das *Daphnias* utilizou-se a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, durante fase exponencial de crescimento. Adotou-se para a alimentação dos cultivos uma concentração de $4,5 \times 10^6$ células/*Daphnia*.

A sensibilidade dos organismos foi testada, pelo menos uma vez por mês, conforme metodologia descrita na NBR 12713 (ABNT, 2009). Utilizou-se como substância de referência o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) nas concentrações de 0,125; 0,25; 0,5; 1,2 e 2,0, mg L⁻¹, para o cálculo em 24 horas. Os testes eram realizados visando assegurar a qualificação dos mesmos dentro dos padrões internacionais e garantir a validação dos testes realizados conforme ISO 6341 (ISO, 1996), que determina a faixa da CE_{50-24h} entre 0,6 a 1,7 mg L⁻¹, para a substância de referência já citada.

A metodologia adotada para o ensaio de toxicidade aguda seguiu as recomendações da NBR 12713 (ABNT, 2004).

As amostras foram mantidas em frascos de vidro âmbar e os testes foram realizados em menos de 48 horas. Na impossibilidade de realização do teste nesta condição as mesmas amostras eram congeladas para serem analisadas em no máximo 2 semanas, segundo a norma DIN 38412-1 (KNIE, 2004).

Utilizou-se 25 mL de solução-teste em recipientes com capacidade de 40 mL, que foram mantidos em câmara de germinação escura. Foram contados os neonatos mortos ou imóveis nos testes em 24 horas e em 48 horas.

Os dados referentes à quantidade de neonatos mortos/imóveis para cada diluição e controle foram inseridos no programa estatístico '*Trimmed Spearman Karber*' para o cálculo de CE₅₀ (concentração efetiva que provoca imobilidade e / ou mortalidade de 50% dos organismos).

As diluições utilizadas para o teste agudo foram de: 10, 20, 40, 60,80 e 100%.

Ensaio de toxicidade crônica

Devido à inexistência de uma norma brasileira para testes de toxicidade crônica a metodologia foi desenvolvida baseada em trabalhos publicados como da autora Brentano (2006), além da norma ABNT-NBR 13.373, a qual descreve o método de ensaio para teste crônico em *Ceriodaphnia spp.* (ABNT, 2005). A nível internacional foi utilizado o trabalho publicado por Mendonça *et al.* (2009), o qual seguiu a norma da ISO 10706:2000 para a elaboração do teste crônico.

O método consistiu 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 (5%; 10%;15%;20%;30%) da amostra, além do controle (água de diluição). A faixa da diluição utilizada para amostra era selecionada de acordo com o resultado obtido para o teste agudo da mesma amostra. O teste foi realizado em sistema semi-estático, sendo as soluções teste renovadas em um intervalo de 48 horas.

Para cada diluição foram utilizadas 10 réplicas, dispondo individualmente 10 organismos jovens de *Daphnia magna* em frascos de 100 mL, cada frasco contendo 50 mL da solução-teste. Os testes foram mantidos nas mesmas condições ambientais que os lotes de cultivo, com luminosidade difusa (foto período de 16 horas de luz) e temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O acompanhamento da sobrevivência e número de jovens gerados por fêmea foi realizado diariamente durante a primeira semana, passando para duas vezes semanais até o final do experimento.

Foram analisados três parâmetros durante a execução do teste: longevidade, crescimento e fecundidade. A longevidade foi obtida pelo acompanhamento da sobrevivência dos organismos até o final do teste (21 dias), o crescimento foi avaliado também ao final do teste usando uma lâmina com escala de 1 cm e microscópio ótico com aumento de 40 vezes para medição. A fecundidade foi avaliada pela contagem dos neonatos gerados pelas fêmeas no período de 21 dias, sendo considerado o número médio por organismo.

Os resultados 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 deletério 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 (ABNT, 2005). A CENO e a CEO foram expressas em porcentagem para os testes dos efluentes provenientes das ETEs.

A avaliação de efeito tóxico na sobrevivência foi efetuada através do teste de *Fisher*. Para a avaliação de efeitos subletais nas concentrações que não afetam a sobrevivência foram realizados testes estatísticos comparando um único tratamento com o controle. A fim de avaliar a normalidade dos dados, utilizou-se o teste de *Shapiro Wilks*. Quando os dados avaliados seguiam uma distribuição normal, ou seja, eram não significativos ($p \geq 0,05$), utilizava-se um teste paramétrico (Teste "t"). Quando o teste de normalidade apresentava valor $p < 0,05$, ou seja, o grupo de dados não seguiam uma distribuição normal, era necessário aplicar um teste não paramétrico, teste de *Wilcoxon's Rank Sum*, para avaliar o efeito tóxico entre os grupos nas diferentes concentrações avaliadas. O software utilizado para todos os testes foi o programa estatístico *SPSS Statistics 17.0*.

As coletas das amostras foram realizadas nas ETEs listadas na Tabela 1, sendo estas selecionadas por tipo de tratamento.

Tabela 1: Estações de tratamento de esgoto classificadas por tipo de tratamento.

CÓDIGO - AMOSTRA	TIPO DE TRATAMENTO
LF	Lagoa facultativa
LF + LM1	LF + 2 Lagoas de Maturação
LF + LM2	LF + 2 Lagoas de Maturação
LA+CI	Lodos Ativados+Cloração
UASB+CI	UASB+Cloração

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio de toxicidade aguda

O cultivo dos organismos-teste no período de execução desta pesquisa foi realizado com sucesso, fato assegurado pelos resultados dos testes de sensibilidade desenvolvidos. A CE_{50-24h} média para a substância de referência dicromato de potássio foi de $1,38 \pm 0,26 \text{ mg L}^{-1}$ com coeficiente de variação de 19%. Na Figura 1 está apresentada a carta controle de sensibilidade do cultivo da *D. magna* (24 horas) utilizando dicromato de potássio como substância de referência.

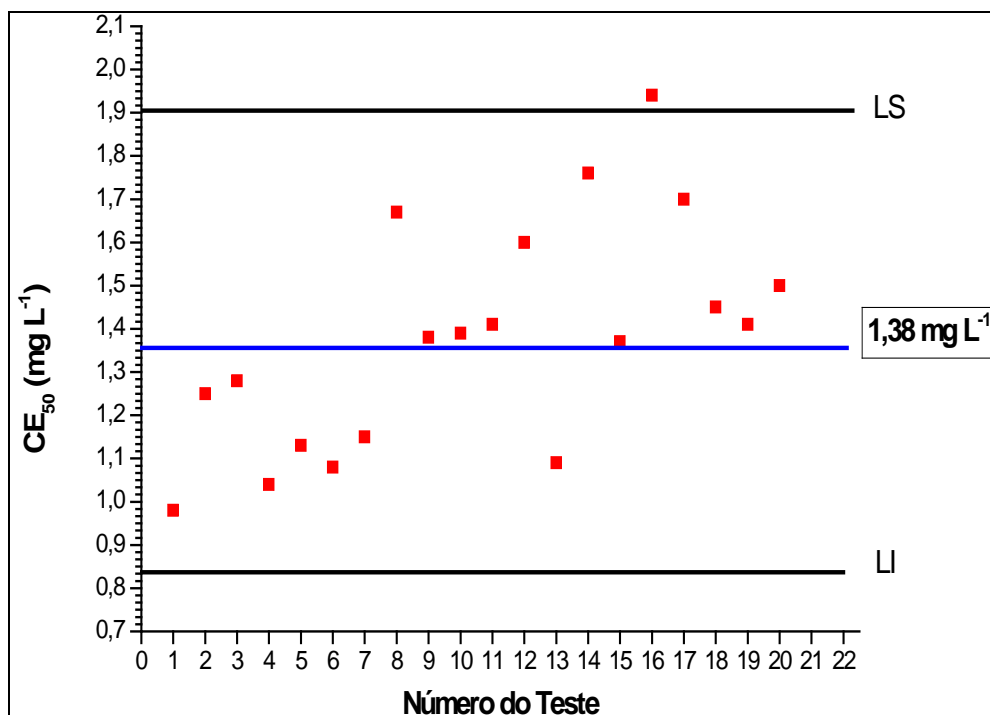


Figura 1: Carta controle de sensibilidade do cultivo da *D. magna* (24 horas).

Na Figura 2 são apresentados os diagramas de *box plot* onde são mostrados os resultados obtidos durante os ensaios de toxicidade aguda em termos de eficiência de remoção de compostos tóxicos nas ETEs analisadas. Nos ensaios de toxicidade aguda não houve mortalidade dos grupos controle.

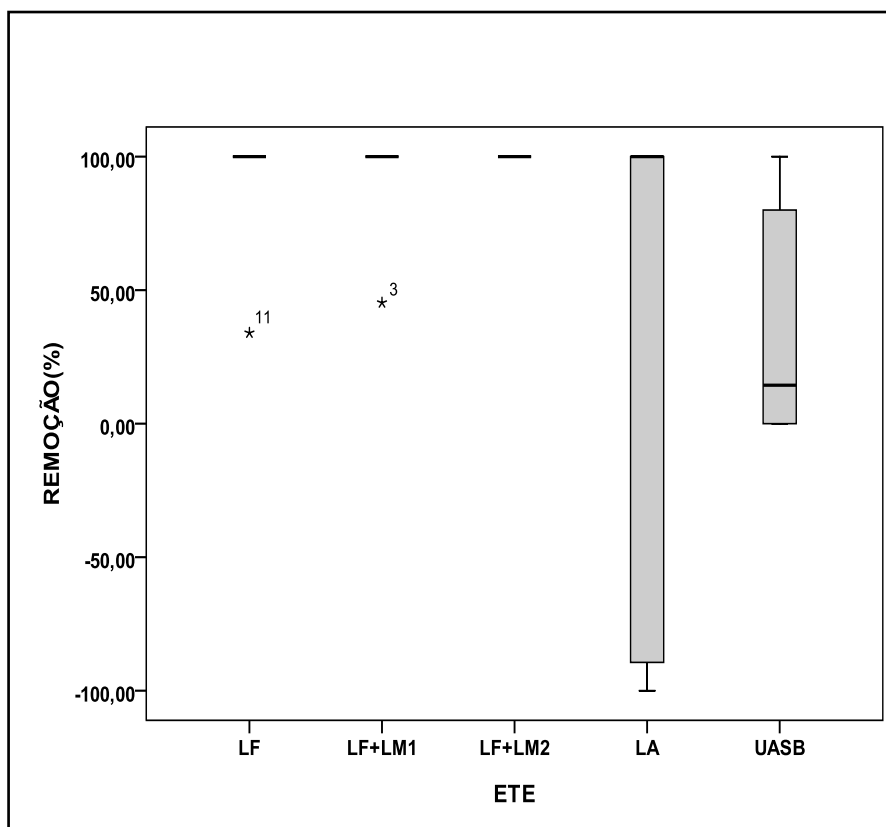


Figura 2: Eficiência de remoção (%) de toxicidade por ETE selecionada

Nas ETEs aonde foram implantadas a tecnologia de lagoas de estabilização foram obtidos resultados de elevada eficiência na remoção dos compostos tóxicos para o bioindicador *Daphnia magna*, com exceção de 2 pontos outliers nº 3(45%) e 11(34%), obtidos nas ETEs LF+LM1 e LF.

Tal comportamento pontual pode ser atribuído à baixa remoção redução de carga orgânica, uma vez que o valor de remoção de DQO ($\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$) foi de apenas 32% nos referidos dias da coleta. Na ETE do tipo UASB seguido de cloração o resultado de eficiência média de remoção de toxicidade foi de 39%. Tal comportamento foi diferente dos obtidos por Laitano e Matias (2006) e Nieto (2000), os quais obtiverem eficiências de remoção em reatores anaeróbios de 81 – 98%. Tais resultados contribuem para inferência da presença de cloro residual no efluente proveniente da tecnologia UASB analisada na presente pesquisa.

Na ETE do tipo lodos ativados (LA) foram obtidos os menores valores de eficiência de remoção de toxicidade, chegando a apresentar eficiências negativas, ou seja, no afluente o valor de toxicidade obtido foi menor que o resultado encontrado no efluente. Provavelmente o aumento de toxicidade deve-se à presença de cloro residual no efluente, uma vez que efluente era coletado após a etapa de cloração. Agentes desinfetantes como hipoclorito de sódio (NaOCl) são amplamente utilizados na etapa de desinfecção de efluentes, os quais podem causar um elevado efeito tóxico em organismos como a *Daphnia* (KIM *et al.*, 2003). Ton *et al.* (2012) obtiveram uma $\text{CE}_{50-48\text{h}}$ de $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ para o NaOCl , mostrando o alto nível de toxicidade do composto à *D. magna* mesmo em baixas concentrações.

Ensaio de toxicidade crônica

Em termos de sobrevivência os valores de CENO e CEO são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 : Valores de CENO e CEO para sobrevivência durante o ensaio de toxicidade crônica.

Amostra	CENO	CEO
LF+LM1	30%	10%
LF+LM2	30%	NS
LF 1º teste	30%	NS
LF 2º teste	30%	NS
LA+CI	ND	5%
UASB+CI	ND	5%

ND: não determinado (valor não foi possível calcular); NS: Não possui efeito significativo.

Nos efluentes provenientes dos sistemas Lodos Ativados e UASB foram encontrados valores máximos de toxicidade crônica, apresentando valor de CEO de 5%, ou seja, na concentração de 5% houve efeito significativo da sobrevivência dos organismos, todas as concentrações testadas apresentaram $p < 0,05$, portanto não foi possível calcular CENO. O fato ocorrido nas duas coletas realizadas para ambos efluentes pode ser atribuído à presença de cloro residual, uma vez que o efluente foi coletado após a etapa de cloração. Segundo Zeng *et al.* (2012) o cloro residual livre é extremamente tóxico para as *D. magna*, em concentrações de $0,8 \text{ mg L}^{-1}$ o índice de mortalidade chega a 100%.

Os valores de CENO e CEO para a avaliação da reprodução, ou seja, do número de neonatos gerados por fêmea são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 : Valores de CENO e CEO para reprodução durante o ensaio de toxicidade crônica.

Amostra	CENO	CEO
LF+LM1	30%	10%
LF+LM2	20%	30%
LF 1º teste	30%	NS
LF 2º teste	30%	NS
LA+CI	ND	ND
UASB+CI	ND	ND

ND: não determinado (valor não foi possível calcular); NS: Não possui efeito significativo.

De acordo com os resultados obtidos, apenas no efluente proveniente da lagoa da maturação da ETE LF+LM2 foi detectado efeito crônico tóxico em termos de diminuição da reprodução dos organismos adultos na concentração de 30%, sendo considerada uma amostra tóxica, quando comparada ao controle. Apesar do valor de CEO apresentado para o efluente da ETE LF+LM1 (10%) a amostra não pode ser considerada tóxica, uma vez que na concentração de 30% não foi observado efeito na reprodução, necessitando assim de um novo teste crônico para o efluente, ou ainda, de um monitoramento da ETE em termos de toxicidade crônica.

Nos resultados obtidos para a ETE LF não foi observado efeito crônico, ou seja, o número médio de neonatos gerados por organismo adulto no controle foi menor em relação às concentrações da amostra analisada, ou seja, o efluente não causou efeito tóxico na fecundidade. Tal comportamento foi, possivelmente, influenciado pela concentração elevada de algas verdes no efluente, tendo como um dos gêneros predominante *Chlorellas* (VON SPERLING, 2002). Há relatos do uso da alga clorofícea *Chlorella vulgaris* na alimentação da *D. magna* (BARATA *et al.*, 2002). Beatrici (2004) e Monteiro (2009) observaram que a concentração do alimento utilizado na dieta influencia diretamente na reprodução dos organismos. Além disso, a presença das algas pode ter alterado a resposta do organismo aos compostos tóxicos, possivelmente presentes modificando a toxicidade aparente do efluente ou o metabolismo do organismo (LANNO *et al.*, 1989).

Não foram analisadas gerações posteriores como foi descrito por Baer *et al.* (2009), os quais reportaram efeito crônicos ao longo das gerações na *D. magna*, tais como: mudança de sexo, alteração no abdômen da *Daphnia* impedindo sua reprodução e alteração na primeira antena do macho. Os efluentes analisados eram provenientes de estações de tratamento municipais e de lagoas aeradas. No entanto, os autores atribuíram o fato a compostos desconhecidos, uma vez que os mesmos não realizaram análises cromatográficas.

Em termos de crescimento não foi observado nenhum efeito crônico das amostras citadas.

Os neonatos gerados nos ensaios crônicos foram avaliados em termos de deformações morfológicas. Não foi possível realizar testes estatísticos nos mesmos para comprovar o efeito crônico devido ao número de neonatos analisados não representarem a população de neonatos gerados durante os testes. Nos testes do efluente da ETE LF+LM2 não foram observadas deformações. Os tipos de alterações morfológicas podem ser visualizados na Figura 3.

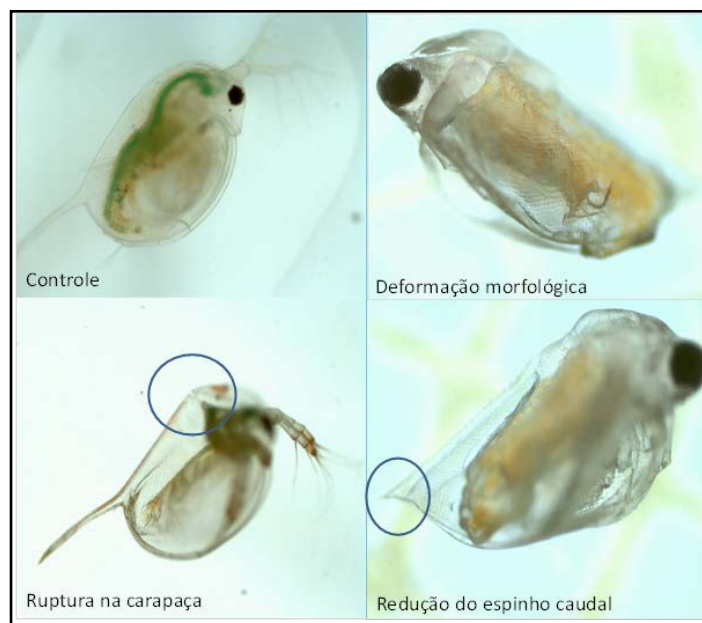


Figura 3: Malformações observadas nos neonatos gerados durante o teste crônico.

As 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, além da realização da exposição ao efluente durante várias gerações.

As alterações morfológicas apresentadas são bastante semelhantes às reportadas por Zhang *et al.* (2003) ao exporem a *D. magna* ao DE nonilfenol (4 – NP). Compostos classificados como desreguladores endócrinos foram detectados em efluentes provenientes de lagoas de estabilização das ETEs citadas (PESSOA *et al.*, 2012).

Além da deformação de neonatos serem atribuídas à presença de compostos classificados como desreguladores endócrinos nos efluentes analisados foram relatadas malformações causadas por cianobactérias, conhecidas por produzirem toxinas (SON DAO *et al.*, 2010). Provavelmente a presença da cianobactérias influenciaram os resultados obtidos, principalmente porque em várias lagoas de estabilização analisadas em Fortaleza a concentração de cianobactérias é bastante elevada (SILVA, 2013).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de ecotoxicidade aguda as ETEs utilizando a tecnologia de lagoas de estabilização apresentaram remoção eficiente dos compostos tóxicos aos organismos aquáticos, enquanto as ETEs de lodos ativados e UASB, ambos seguidos da etapa de cloração, apresentaram alto nível de contaminação em *Daphnia magna*.

Em relação ao ensaio de ecotoxicidade crônica em *Daphnia magna* pode-se concluir que apenas no efluente proveniente do tratamento de LF não foram observados efeitos crônicos de sobrevivência, reprodução e crescimento, no entanto no efluente foi evidenciado o parâmetro de deformações morfológicas em neonatos.

Os efluentes provenientes do tratamento de LA e UASB seguidos de cloração apresentam um risco potencial aos organismos aquáticos presentes nos corpos receptores.

Baseado nos resultados obtidos a tecnologia que apresentou maior eficiência de remoção foi a lagoa de estabilização seguida de lagoa de maturação em termos de análise ecotoxicológica.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) e Companhia de Água e Esgoto do Ceará (CAGECE), pelo financiamento da pesquisa e/ou bolsas de estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). ABNT NBR 13373. 15f, 2005.
2. ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera). ABNT NBR 12713. 23f, 2009.
3. BAER, K.N.; MCCOOLE, M.D.; OVERTURF, M.D. Modulations of sex ratios in *Daphnia magna* following multigenerational exposure to sewage treatment plant effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 72, p. 1545-1550, 2009.
4. BARATA, C.; MARKICH, S.J.; BAIRD, D.J.; SOARES, A.M.V.M. The relative importance of water and food as cadmium sources to *Daphnia magna* Straus. *Aquatic Toxicology*, v. 61, p.143 - 154, 2002.
5. BEATRICE, A.C. Avaliação da fertilidade e sensibilidade da *Daphnia similis* e *Daphnia magna* (crustacea, cladocera) submetidas a diferentes tipo de dietas e meio de cultivo. Porto Alegre, 2004, 46f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.
6. BRENTANO, D.M. Desenvolvimento e aplicação do teste de toxicidade crônica com *Daphnia magna*: Avaliação de efluentes tratados de um aterro sanitário. 2006, 129f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
7. LAITANO, K.S.; MATIAS, W.G. Testes de toxicidade com *Daphnia magna*: uma ferramenta para avaliação de um reator experimental UASB. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v. 1, n.1, p.43-47, 2006.
8. LANNO, R.P.; HICKIE, B.E.; DIXON, D.G. Feeding and nutritional considerations in aquatic toxicology. *Hydrobiologia*, v. 188/189, p. 525-531, 1989.
9. KIM, B.C.; PARK, K.S.; KIM, S.D.; GU, M.B. Evaluation of a high throughput toxicity biosensor and comparison with a *Daphnia magna* bioassay. *Biosensors and Bioelectronics*, v.18, p.821-826, 2003.
10. KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. Testes Ecotoxicológicos: Métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/ GTZ, 2004. 289 p.
11. MENDONÇA, E.; PICADO, A.; PAIXÃO, S.M.; SILVA, L.; CUNHA, M.A.; LEITÃO, S.; MOURA, I.; CORTEZ, C.; BRITO, F. Ecotoxicity tests in the environmental analysis of wastewater treatment plants: Case study in Portugal. *Journal of Hazardous Materials*, v.163, p. 665-670, 2009.
12. MONTEIRO, S.P.P.B. Desenvolvimento e aplicação de teste de toxicidade aguda utilizando como organismo-teste *Daphnia magna*. 2009, 83f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2009.
13. NIETO, R. Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais - ferramenta para ações de controle da poluição das águas. *Anais 17º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2000.
14. PESSOA, G. P.; DOS SANTOS, A.B.; SOUZA, N. C.; ALVES, J. A. C.; NASCIMENTO, R. F. Desenvolvimento de metodologia para avaliar remoção de estrogênios em estações de tratamento de esgotos. *Química Nova (Online)*, v. 35, p. 968-973, 2012.
15. SILVA, A.P.F.S. Eletroflotação não-convencional aplicada a separação e ruptura celular de microalgas: um avanço na viabilidade da geração de biodiesel. 2013, 100f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2013.
16. SON DAO, T.; DO-HONG, L.-C.; WIEGAND, C. Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. *Toxicol*, v. 55, p. 1244-1254, 2010.

17. TON, S-S.; CHANG, S-H.; HSU, L-Y.; WANG, M-H.; WANG, K-S. Evaluation of acute toxicity and teratogenic effects of disinfectants by *Daphnia magna* embryo assay. Environmental Pollution, v.168, p.54-61, 2012.
18. VON SPERLING, M. Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Lagoas de Estabilização. Belo Horizonte: UFMG, 2002. 196p. ISBN: 85-85266-06-6.
19. ZENG, Y.; FU, X.; REN, Z. The Effects of Residual Chlorine on the Behavioural Responses of *Daphnia magna* in the Early Warning of Drinking Water Accidental Events. Procedia Environmental Sciences, v. 13, p. 71-79, 2012.
20. ZHANG, L.; GIBBLE, R.; BAER, K.N. The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development, and reproduction in *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, v.55, p.330-337, 2003.