UTILIZAÇÃO DE BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM RESÍDUOS DE FOSSA E TANQUE SÉPTICO

Use of assessment for bioassays ecotoxicity in waste pit and septic tank.

Geísa Vieira Vasconcelos [1]
Edlene Sales de Paula[2]
Bárbara Brant Batista [3]
Clarise Souza Albuquerque[4]
Ronaldo Stefanutti [5]

Endereço do autor*:* Campus do Pici, s/n Bloco 713 Bairro Pici Cidade Fortaleza- Ceará CEP 60451-970– Brasil Tel.:+55(85)9610-4945. E-mail: geisavieira@hotmail.com

Abstract
The agricultural use of sewage sludge is an alternative that presents environmental advantages when compared to other disposal practices and their implementation on the ground can bring benefits to agriculture. The present study aimed to assess the acute ecotoxicity of waste clean-trucks pit (septic sludge) from different residences through the use of bioassays with three bodies biomarkers of toxicity, microcrustaceans (Daphnia magna and Daphnia similis) and bacteria (Vibrio fischeri) Microtox ® System. All samples depleted truck clean-pit showed acute toxicity for the three organisms Daphnia magna, Daphnia similis and Vibrio fischeri mean EC50 equal to 54.0%, 41.0%, 52.0% respectively, all considered toxic. With respect to sensitivity to Daphnia similis was the body that had higher sensitivity for septic waste, since the lower the EC50 is the most toxic sample. From the results, the waste truck clean pit were toxic and could not be used in agriculture without a prior treatment for removal of toxic.

KeyWords: aquatic microorganisms, ecotoxicological testing, septic sludge.

[1] Doutoranda em Engenharia Civil na área de Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Mestre em Engenharia Civil na área de Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará (UFC). Tecnóloga em Processos Químicos pelo Instituto Federal de Educação e Tecnologia (IFCE). Email: geisavieira@hotmail.com
[2] Universidade Federal do Ceará. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental DEHA (UFC).
[3] Universidade Federal do Ceará. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental DEHA (UFC).
[4] Universidade Federal do Ceará. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental DEHA (UFC).
[5] Universidade Federal do Ceará. Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental DEHA (UFC).

UTILIZAÇÃO DE BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE EM RESÍDUOS DE FOSSA E TANQUE SÉPTICO

Resumo
O uso agrícola do lodo de esgoto é uma alternativa que apresenta vantagens ambientais quando comparada a outras práticas de destinação final e a sua aplicação no solo pode trazer benefícios à agricultura. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade aguda de resíduos de caminhões limpa-fossa (lodo séptico), de diferentes residências através da utilização de bioensaios, com três organismos bioindicadores de toxicidade, os microcrustáceos (*Daphnia magna e Daphnia similis*) e a bactéria (*Vibrio fischeri*) no Sistema Microtox®. Todas as amostras esgotadas de caminhões limpa-fossa apresentaram toxicidade aguda para os três microorganismos *Daphnia magna, Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* com média de CE50 igual á 54,0%, 41,0% 52,0% respectivamente, sendo todos considerados tóxicos. Com relação à sensibilidade a *Daphnia similis* foi o organismo que apresentou maior sensibilidade para resíduos sépticos, pois quanto menor o CE50 mais tóxica é a amostra. Pelos resultados obtidos, os resíduos de caminhões limpa-fossa apresentaram toxicidade e não poderiam ser utilizados na agricultura sem um prévio tratamento para a remoção da toxicidade.

Palavras chaves: Lodo de fossa séptica, Caracterização físico-química, Ensaios ecotoxicológicos, Microorganismos aquáticos.

Introdução

A necessidade de estudos ambientais com ênfase nas respostas dos organismos em conjunto com as análises químicas, levou ao desenvolvimento de uma ciência denominada Ecotoxicologia. Segundo Newman e Unger (2002), a Ecotoxicologia é uma ciência que estuda os contaminantes e seus efeitos nos constituintes da biosfera, avaliando a capacidade de substâncias químicas (isoladas ou em combinação) e amostras ambientais de causar efeitos deletérios aos organismos expostos (PEREIRA et al., 2004).
Os sinais da poluição tornam-se mais evidentes com o aumento populacional, tendo como uma das conseqüências doenças de veiculação hídricas associadas à falta de saneamento básico. A ausência, total ou parcial de serviços públicos de esgotos sanitários nas áreas urbanas e rurais exige a implantação de algum meio de disposição dos esgotos locais, com principal objetivo de evitar a contaminação do solo e da água. O tratamento de esgoto é importante não só para o reaproveitamento da água, mas também pela redução de sua ação como forte agente poluente de rios, lagos e mares. Na saúde pública evita doenças como hepatite, cólera e leptospirose contribuindo assim para a saúde dos cearenses e a preservação do meio ambiente.
Uma maneira simples e barata para a disposição do esgoto principalmente em áreas suburbanas e rurais onde a rede coletora não abrange os serviços públicos de esgotos sanitários é o sistema de fossa séptica onde é feito o tratamento primário de esgoto. Uma alternativa interessante seria dispor esses resíduos de caminhão limpa-fossa no solo para uso agrícola, entretanto, o material necessitaria de estudos preliminares de caracterização físico-química, microbiológica, ecotoxicológica e posteriormente um pós-tratamento para remoção de patógenos.

Objetivos

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a ecotoxicidade dos resíduos de fossa e tanques sépticos através de microorganismos como a *Daphnia similis*, *Daphnia magna* e a bactéria *Vibrio fischeri* a fim de aplicá-lo na agricultura como composto estável, propondo atividades mitigadoras para os seus possíveis impactos.

Métodos

Os testes de ecotoxicidade foram realizados com três organismos diferentes: os microcrustáceos *Daphnia similis, Daphnia magna* e a bactéria *Vibrio fischeri* (Sistema Microtox®) de acordo com a NBR 12713:2009 para as Daphnias e a NBR 15411-3:2006 para bactérias liofilizadas *Vibrio fischeri*. Foram feitos ensaios de toxicidade aguda, para cada espécie após as coletas dos resíduos dos caminhões limpa fossa (VASCONCELOS, 2012).

Os microcrustáceos utilizados nos ensaios de toxicidade foram cultivados no Laboratório de Saneamento (LABOSAN) da Universidade Federal do Ceará (UFC). O preparo do meio de cultivo das Daphnia será realizado uma vez por semana, aerado por 24 horas para completa solubilização dos sais, saturação do oxigênio dissolvido que deve estar numa faixa entre 60 - 100% e estabilização do pH. Os organismos foram cultivados em forma de lote, sendo que cada lote comportava 25 organismos em 1L de meio de cultivo, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 16h de luz e 8h no escuro, temperatura de 18°C a 22°C, mantidos em câmara de germinação da marca Tecnal TE-401 com temperatura de ± 20°C. Os lotes eram formados exclusivamente por fêmeas que se reproduzem por partenogênese. O meio de cultivo era mantido na câmara, antes da sua utilização, para evitar diferenças de temperaturas maiores que 2°C.As Daphnias foram alimentas com suspensão da alga *Pseudokirchneriella subcaptada* na concentração diária de 4,5 x 106 células por mililitro de organismo adulto, onde o alimento foi fornecido diariamente, ou intervalo máximo de dois dias.

O teste de toxicidade aguda retrata o efeito deletério causado pela amostra na mobilidade dos organismos teste em um período de 48h. Para a realização do ensaio de toxicidade foram coletados em frascos de polipropileno cerca de 500 mL de resíduos de fossa séptica. O ensaio de toxicidade aguda permite determinar a concentração efetiva das amostras que causa imobilidade a 50% dos organismos jovens (CE50) expostos por um período de 48 horas. Os ensaios de toxicidade aguda com a bactéria *Vibrio fischeri* foram realizados utilizando o sistema Microtox M-500 (Microbics) segundo a ABNT NBR 15411-3 (2006) e a Norma CETESB (L5. 227). O sistema Microtox® utiliza bactérias luminescentes para determinar a toxicidade de uma determinada amostra, através da verificação da quantidade de luz produzida pelas bactérias expostas a diferentes concentrações de uma amostra potencialmente tóxica, onde na presença dessas substâncias a bioluminescência diminui, sendo a quantidade de perda de luz proporcional à toxicidade da amostra.

O Microtox® possui um fotômetro acoplado, onde têm um compartimento com poços que permite a manutenção do estoque de bactérias a 4°C ± 0,5 e uma série de poços onde são preparadas a série de diluições com fator igual á 2,0. O critério de avaliação do ensaio é o decréscimo da luminescência medida após períodos de contato de 5, 15 e 30 minutos. Os testes foram feitos com auxilio do programa computacional Microtox Omni Windows Software que gera como resultado final um gráfico em que são plotadas as concentrações de exposição CE50 e o efeito tóxico presente.

Figura1: Microtox utilizado nos testes com a bactéria *Vibrio fischeri*

Resultados

De acordo com a Tabela 1 os resultados de CE50 para a bactéria *Vibrio fischeri* apresentou toxicidade aguda para os resíduos de tanque e fossa séptica com CE50 variando entre 37,8% e 65%.

TABELA 1: Resultado do CE50 para o teste de ecotoxicidade com a bactéria *Vibrio fischeri.*

TESTE DE ECOTOXICIDADE AGUDA COM A BACTÉRIA *VIBRIO FISCHERI*	
CE50% (15min)	Classificação quanto ao CE50 (BULICH)
37,8	Tóxica
53,0	Moderadamente Tóxica
65,0	Moderadamente Tóxica
52,3	Moderadamente Tóxica

A Tabela 2 mostra os resultados de CE50 para os ensaios ecotoxicológicos com os organismos a *Daphnia magna* e *Daphnia similis* que apresentaram toxicidade aguda para os resíduos de tanque e fossa séptica de acordo com a classificação para toxicidade de Bulich (1992).

TABELA 2: Resultado do CE50 para o teste de ecotoxicidade com os organismos *Daphnia similis* e *Daphnia magna*

TESTE DE ECOTOXICIDADE AGUDA COM *DAPHNIAS*- 48H		
Daphnia Magna CE50%	*Daphnia Similis* CE50%	Classificação quanto ao CE50 (BULICH)
45	34	Tóxica
58	32	Moderadamente Tóxica/Tóxica
37	58	Tóxica/Moderadamente Tóxica
69	57	Moderadamente Tóxica
55	49	Moderadamente Tóxica/Tóxica
49	37	Tóxica
44	26	Tóxica
89	52	Levemente Tóxica/Moderadamente Tóxica
26	21	Tóxica/ Muito Tóxica
50	27	Tóxica
55	38	Moderadamente Tóxica/Tóxica
71	63	Moderadamente Tóxica

A Figura 2 mostra o gráfico de barras com as médias dos CE50 para cada microorganismo e podemos observar que a *Daphnia similis* se mostrou mais sensível aos resíduos de fossa e tanque séptico do que a *Daphnia magna* e ao Vibrio fischeri, ficando a relação de sensibilidade assim: DS>VF>DM. Ao observar os resultados obtidos com os ensaios ecotoxicológicos empregados neste estudo, é possível afirmar que todos os organismos demonstraram sensibilidade às amostras testadas e, portanto, a toxicidade foi confirmada**.**

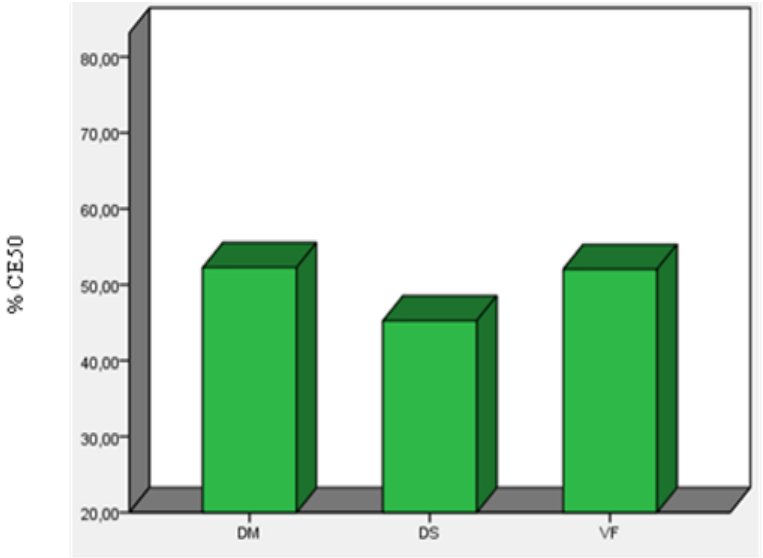

Figura 1: Gráfico com a média dos CE50 para cada microroganismo.

Conclusões e recomendações

Todas as amostras de resíduos de caminhão limpa-fossa apresentaram toxicidade aguda para os organismos *Daphnia magna, Daphnia similis* e bactéria *Vibrio fischeri*. O CE50 das amostras para Daphnia magna variou entre 26% e 71%, com média de 54%. Para *Daphnia similis* o CE50 variou entre 21% e 63%, com média de 41% e para a bactéria *Vibrio fischeri* o CE50 variou entre 37,8% e 65%, com média de 52%, sendo que o organismo *Daphnia similis* foi o que apresentou maior sensibilidade aos resíduos de caminhão limpa fossa, pois foi o que obteve o menor CE50 nas amostras.

Os organismos-testes apresentaram sensibilidades diferentes quando expostos aos resíduos de caminhão limpa fossa. A ordem crescente de sensibilidade do menos ao mais sensível verificada foi: D. magna < Vibrio fischeri < D. similis. Assim, nessas condições de estudo o organismo que apresentou maior sensibilidade foi a *Daphnia similis*. Deste modo, o uso de ensaios ecotoxicológicos como ferramenta para avaliar a toxicidade de amostras de resíduos sépticos se mostrou uma ferramenta importante para avaliar o uso desse lodo na agricultura, uma vez que estudos como este ainda são escassos. Além disso, as respostas obtidas por meio de ensaios ecotoxicológicos são muito valiosas.

Agradecimentos

Cnpq, Capes, Finep, Cagece.

Referências bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. ABNT NBR 12713:2009. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com Daphnia spp. – 23 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TECNICAS. ABNT NBR 15411-3:2006. Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de Vibrio fischeri (Ensaio de bactéria luminescente) Parte 3: Método utilizando bactérias liofilizadas. Rio de Janeiro.15p.

BULICH, A.A. A pratical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic. Process Biochemistry. p. 45-47.

CETESB. Métodos de Avaliação da Toxicidade de Poluentes a Organismos Aquáticos. São Paulo, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1992.

NEWMAN, M.C.; UNGER, M. A. Fundamentals of Ecotoxicology. Second Edition. Boca Raton, USA, Lewis Publishers, 2002.

PEREIRA, C. D. S.; ROTUNDO, M. M.; FURQUIM, L. G.; IANNUZZI, A.; FERRAZ, N. L.; SANTOS, A. R. Avaliação da toxicidade de águas superficiais e de fundo de uma área próxima à desembocadura do estuário de Santos. In: Anais do IV Congresso Brasileiro de Pesquisas Ambientais e Saúde. 2004, Santos, SP.

VASCONCELOS, G.V. Utilização de bioensaios para avaliação da ecotoxicidade em resíduos de esgotamento de caminhão limpa-fossa: lodo de fossa séptica. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.