

## VI-133 - ENSAIOS DE SENSIBILIDADE COM DIFERENTES ORGANISMOS AQUÁTICOS PARA SUBSTÂNCIAS PRESENTES EM LIXIVIADOS DE ATERRO SANITÁRIO

**Mariane Libório Cardoso** <sup>(1)</sup>

Engenheira Ambiental pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Mestranda em Engenharia de Edificações e Saneamento pela Universidade Estadual de Londrina (UEL).

**Sarah Sasaki Jurkevicz**

Engenheira Ambiental (UTFPR). Mestranda em Engenharia de Edificações e Saneamento (UEL).

**Isabela de Andrade e Nobrega**

Graduação em Engenharia Civil (UEL).

**Cassia Reika Takabayashi Yamashita**

Farmacêutica pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Doutora em Ciência de Alimentos (UEL). Pós-doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil da UEL.

**Emily Giany Assunção**

Engenheira Civil pela Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Mestre em Engenharia de Edificações e Saneamento (UEL). Doutoranda em Engenharia Civil (UEL).

**Endereço**<sup>(1)</sup>: Rodovia Celso Garcia Cid, Km 380, s/n - Campus Universitário, Londrina - PR, 86057-970 - Brasil - Tel: (43) 3371-5826 e-mail: [marianeliborio@gmail.com](mailto:marianeliborio@gmail.com)

### RESUMO

O lixiviado de aterro sanitário possui diversos poluentes potencialmente tóxicos, dentre os quais destacam-se o cloreto e o nitrogênio amoniacal. Em altas concentrações, esses poluentes podem trazer efeitos nocivos aos organismos aquáticos. Para verificar a toxicidade dessas substâncias foram realizados ensaios de ecotoxicidade como ferramenta de avaliação dos riscos que essas substâncias químicas apresentam ao ambiente. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade de organismos aquáticos em relação ao amônio e ao cloreto. Os organismos-teste: *Artemia salina*, *Daphnia magna* e *Ceriodaphnia dubia*, foram expostos a diversas concentrações dessas substâncias em 24 horas de acordo com os procedimentos normativos específicos para cada organismo. Os resultados dos ensaios apresentaram diferenças de sensibilidade para os organismos: *A. salina*, *D. magna* e *C. dubia*, nesta ordem de resistência para ambas as substâncias. Além disso, os resultados indicaram o amônio como principal agente tóxico do lixiviado, uma vez que os valores de CE/CL50 encontrados nos ensaios de sensibilidade com esta substância foram da mesma ordem de grandeza dos valores encontrados em amostras de lixiviados brutos de diferentes aterros sanitários.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ensaios de sensibilidade, lixiviado, organismos aquáticos

### INTRODUÇÃO

O lixiviado de aterro sanitário é considerado um dos maiores problemas decorrentes da disposição final de resíduos. É produzido através da combinação da matéria orgânica e inorgânica em decomposição interagindo com a água da chuva que percola no aterro. Os poluentes dissolvidos nesse efluente causam inúmeros impactos adversos ao ambiente, como a poluição do solo, a contaminação de águas superficiais e subterrâneas e a intoxicação de organismos aquáticos (MOJIRI et al. 2015).

Dentre os poluentes nocivos, presentes em lixiviados de aterro sanitário, que contribuem para condições ambientais adversas aos organismos aquáticos, destacam-se as altas concentrações de cloreto e nitrogênio amoniacal (PABLOS et al., 2011), metais pesados, compostos orgânicos e condições de pH (RIBÉ et al., 2012), tornando-se imprescindível a realização de bioensaios para verificar o potencial tóxico de cada substância.

Ensaios de ecotoxicidade são ferramentas capazes de avaliar a toxicidade de efluentes, por meio da compreensão da ação de substâncias tóxicas e a avaliação do risco que estas apresentam para o ambiente.

Ensaio de sensibilidade são realizados antes de iniciar os ensaios de ecotoxicidade, para verificar qual a concentração da substância específica que causa algum efeito a 0, 50 e 100% dos organismos-teste (ABNT, 2009).

Considerando que o lixiviado possui substâncias que podem ocasionar toxicidade ao efluente mesmo após tratamento, faz-se necessário a realização de ensaios de sensibilidade com diferentes organismos-teste e substâncias específicas presentes no lixiviado de modo a contribuir para redução dos impactos negativos ao corpo receptor.

## OBJETIVO

Avaliar a sensibilidade de diferentes organismos aquáticos às substâncias comumente presentes em lixiviados de aterro sanitário: amônio e cloreto.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### SUBSTÂNCIAS DE REFERÊNCIA

Para os ensaios ecotoxicológicos foram selecionadas as substâncias de referência comumente presentes no lixiviados: amônio e cloreto. Foram preparadas soluções concentradas de cloreto de sódio (NaCl) com 15 g L<sup>-1</sup> de Cl e de carbonato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) com 10 g L<sup>-1</sup> de NH<sub>4</sub> em água ultrapura.

### ENSAIOS PRELIMINARES DE ECOTOXICIDADE

As amostras constituídas de diluições dos diferentes lixiviados e das soluções concentradas em meios específicos foram submetidas aos ensaios de ecotoxicidade aguda, utilizando *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* e *Artemia salina* como organismos-teste.

Seguindo os procedimentos normativos recomendados para cada organismo-teste, foram realizados ensaios preliminares, considerando dados da literatura, para estabelecer as faixas das concentrações de NH<sub>4</sub> e Cl, a fim de se obter os valores correspondentes a 0 e 100% dos efeitos para cada organismo-teste e assim, viabilizar a determinação das concentrações efetivas e letais em 50% dos organismos (CE50 e CL50) nos ensaios finais.

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

Com as faixas de concentrações estabelecidas, os ensaios de ecotoxicidade seguiram as normas padronizadas: ABNT (2010) para *C. dubia* e da ABNT (2009) para *D. magna* e consistiram na exposição de 5 neonatas com idade entre 6 e 24 h, obtidas a partir de fêmeas com idade entre 7 e 21 dias para a *C. dubia* e com idade entre 2 e 26h obtidas de fêmeas com idade entre 10 a 60 dias para a *D. magna*, em diferentes concentrações de amônio e cloreto, em meios específicos, para o volume total de 10 mL em placas de cultivo celular em polipropileno (TPP). Para cada amostra, foi utilizado um controle negativo em meios específicos: água reconstituída para a *C. dubia* e meio M4 para a *D. magna* e controle positivo (Dicromato de potássio 0,2 g L<sup>-1</sup>). Os ensaios foram realizados em quadruplicata.

Os experimentos foram mantidos em temperatura controlada de 25° C, sem iluminação e sem alimentação. No início de cada ensaio foram realizadas as medidas dos parâmetros de pH, oxigênio dissolvido - OD e dureza e ao final apenas dos parâmetros pH e OD, a fim de garantir as condições de sobrevivência (pH entre 5,0 e 9,0 e OD superior a 3 mg L<sup>-1</sup>).

Após os períodos de exposição de 24h foi realizada a contagem dos organismos imóveis e 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 24 h – CE50<sub>24h</sub> obtida por cálculo estatístico utilizando o programa Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95% (Hamilton *et al.* 1977). Foi utilizado como critério de validação do ensaio: porcentagem de organismos imóveis ou mortos no controle negativo inferior ou igual a 10%.

## ENSAIO DE ECOTOXICIDADE EM *A. SALINA*

Os ensaios do crustáceo de água salgada *Artemia salina* foram baseados e adaptados da norma da Petrobrás N-2588 (1996). Os ovos de *A. salina* foram eclodidos em solução salina artificial, por 48 horas, sob iluminação de 60W e temperatura entre 27 a 30°C, em recipiente retangular de material plástico compartimentado por placas contendo orifícios uniformemente distribuídos. Um compartimento do recipiente foi coberto com papel alumínio, a fim de viabilizar a migração dos náuplios por fototropismo.

Para cada amostra diluída em meio específico (solução salina artificial), controle negativo (solução salina artificial) e controle positivo (Dicromato de potássio 0,2 g.L<sup>-1</sup>) os ensaios foram realizados em tubos de ensaio de 13 mL contendo 5 mL de amostra, com a adição de 9 a 12 náuplios de *Artemia*/tubo em triplicata, mantidos sob iluminação a uma temperatura de 27-30 °C por 24 horas.

Os náuplios vivos e mortos foram contados com auxílio de uma pipeta Pasteur de vidro e os resultados foram expressos em concentração letal mediana - CL50<sub>24h</sub> por cálculo estatístico usando o programa Trimmed Spearman-Karber com intervalo de confiança de 95%.

## RESULTADOS

Nas figuras 1 e 2 são apresentados os resultados obtidos para os ensaios de ecotoxicidade expressos em CE50<sub>24h</sub> para *C. dubia* e *D. magna* e em CL50<sub>24h</sub> para *A. salina*, em relação ao amônio e cloreto, respectivamente.

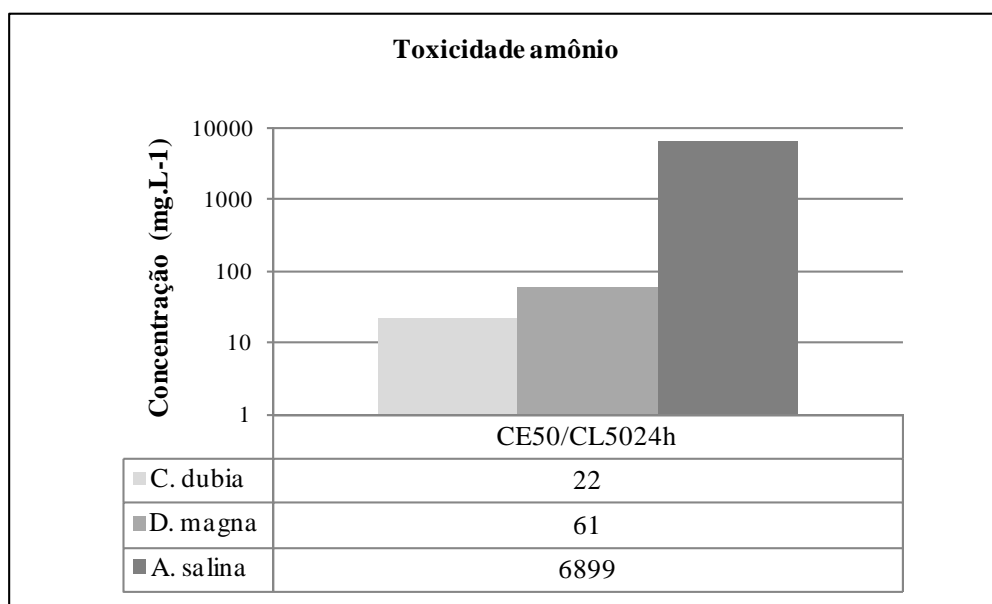
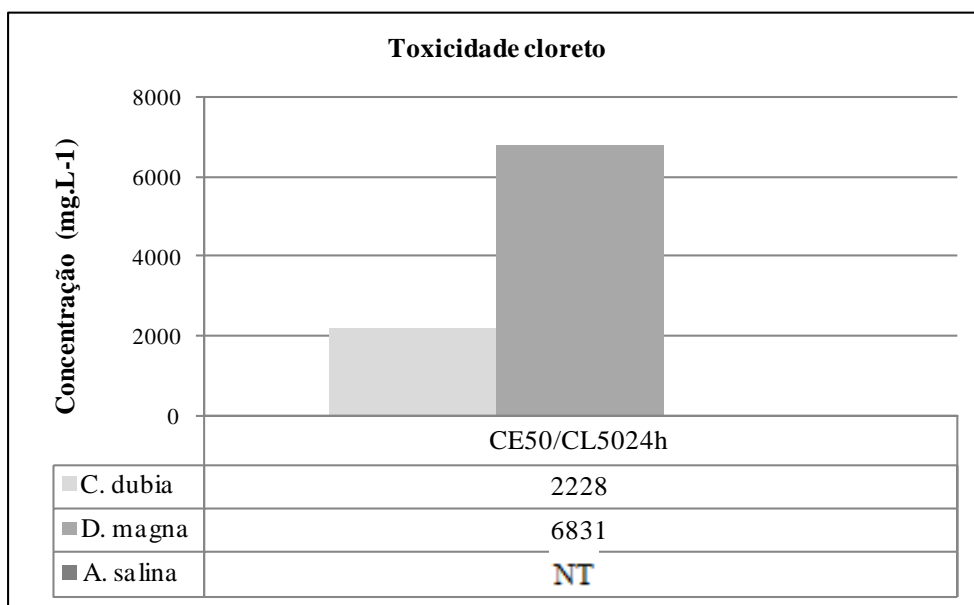


Figura 1: - Valor de CE50<sub>24h</sub> e CL50<sub>24h</sub> (mg L<sup>-1</sup>) obtido nos ensaios de ecotoxicidade com os organismos-teste *C.dubia*, *D. magna* e *A. salina* em relação ao amônio.



**Figura 1: - Valor de CE<sub>50</sub><sup>24h</sup> e CL<sub>50</sub><sup>24h</sup> (mg L<sup>-1</sup>) obtido nos ensaios de ecotoxicidade com os organismos-teste *C.dubia*, *D. magna* e *A. salina* em relação ao cloreto.**

A tabela 1 apresenta os resultados da caracterização dos lixiviados de diferentes aterros sanitários em relação às concentrações de amônio (com valores entre 236 a 1164 mg L<sup>-1</sup>) e cloreto (com valores entre 844 a 2744 mg L<sup>-1</sup>) e dos ensaios de ecotoxicidade para os organismos-teste *C.dubia*, *D. magna* e *A. salina*, bem como as concentrações estimadas de amônio e cloreto calculadas em mg L<sup>-1</sup> em relação aos valores de CE e CL<sub>50</sub><sup>24h</sup> expressas em % v v<sup>-1</sup>. Vale ressaltar que as concentrações de amônio foram calculadas considerando o equilíbrio entre a amônia livre e o íon amônio em função dos valores de pH e temperatura para cada lixiviado, tendo apresentado porcentagens da forma de íon amônio que variaram entre 58 e 88%.

**Tabela 1: Concentrações de {amônio} e [cloreto] nos lixiviados, Valores de CE e CL<sub>50</sub><sup>24h</sup> (% v v<sup>-1</sup>) obtidos nos ensaios de ecotoxicidade dos lixiviados com os organismos-teste *C.dubia*, *D. magna* e *A. salina* e concentrações estimadas de {amônio} e [cloreto] em relação às CE e CL<sub>50</sub><sup>24h</sup>.**

| Aterro Sanitário                         | Concentrações de {Amônio} e [cloreto] no lixiviado (mg L <sup>-1</sup> ) | <i>C. dubia</i> CE <sub>50</sub> <sup>24h</sup> (% v v <sup>-1</sup> ) | <i>D. magna</i> CE <sub>50</sub> <sup>24h</sup> (% v v <sup>-1</sup> ) | <i>A. salina</i> CL <sub>50</sub> <sup>24h</sup> (% v v <sup>-1</sup> ) | Concentrações estimadas de {amônio} e [cloreto] em relação às CE e CL <sub>50</sub> <sup>24h</sup> |                                       |  |
|--|--|--|--|---|--|---------------------------------------|--|
|  |  |  |  |   | <i>C. dubia</i> (mg L <sup>-1</sup> )  | <i>D. magna</i> (mg L <sup>-1</sup> ) | <i>A. salina</i> (mg L <sup>-1</sup> ) |
| CTR Londrina-PR / pH=8,37<br>T = 6       | {344}<br>[2102]  | 11,0   | -----  | 57,0  | {33,34}<br>[231,22]  | -----<br>-----                        | {172,75}<br>[1198,14]                  |
| Cianorte-PR / pH=8,7<br>T = 14           | {671}<br>[844]   | 5,8  | 11,0   | 34,5  | {30,20}<br>[48,95]   | {57,28}<br>[92,84]                    | {179,64}<br>[291,18]                   |
|  | {1164}<br>[2153]   | 1,6  | 2,5  | 16,2  | {14,45}<br>[34,54]   | {22,58}<br>[53,83]                    | {150,85}<br>[348,79]                   |
| Limoeiro Londrina-PR<br>pH=8,9<br>T*= 36 | {236}<br>[1828]  | 2,8  | 10,7   | 63,7  | {10,70}<br>[51,18]   | {39,62}<br>[195,60]                   | {103,13}<br>[1164,44]                  |
| Rolândia-PR<br>pH=9,1<br>T = 13          | {859}<br>[2744]  | 2,6  | 3,0  | 8,0   | {12,93}<br>[71,34]   | {14,92}<br>[82,32]                    | {39,79}<br>[1256,75]                   |

T = tempo de operação do aterro sanitário (anos)

T\*= aterro desativado - tempo de operação (anos)

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

De acordo com a Figura 1 e Tabela 1, os ensaios de ecotoxicidade realizados para as substâncias de referência (amônio e cloreto) bem como para os diferentes lixiviados indicaram que a ordem de resistência obtida para os organismos-teste foi: *A. salina*, *D. magna* e *C. dubia*, uma vez que os valores numéricos de toxicidade aguda expressos como CE50 e CL50 apresentam uma relação inversa à toxicidade, ou seja, menores valores numéricos indicam maiores toxicidades (BRASIL, 2011).

Os microcrustáceos *C. dubia* expostos às soluções de amônio (Figura 1) com 10 concentrações variando de 3 a 39 mg L<sup>-1</sup> apresentaram imobilidade/letalidade em 24 horas a partir da concentração de 11 mg L<sup>-1</sup>, CE50 indicado na Figura 1 de 22 mg L<sup>-1</sup> e efeito a 100% dos organismos apenas com 39 mg L<sup>-1</sup>. Para a *D. magna* com concentrações variando de 15 a 70 mg L<sup>-1</sup>, foi observada após 24 horas de exposição, CE50 de 61 mg L<sup>-1</sup> e CE100 de 70 mg L<sup>-1</sup> de amônio. A *A. salina* apresentou-se mais resistente comparada com os outros organismos, com início de imobilidade/letalidade para a concentração de 2280 mg L<sup>-1</sup>, CE50 de 6899 mg L<sup>-1</sup> e efeito a 100% dos organismos para a concentração de 8640 mg L<sup>-1</sup> de amônio.

Nos ensaios de sensibilidade, a faixa de concentrações estabelecida para o cloreto variou de 1000 a 15000 mg L<sup>-1</sup> devido ao comportamento distinto dos organismos. A *C. dubia* exposta a solução de Cloreto de 1000 a 3000 mg L<sup>-1</sup> com 9 concentrações intermediárias apresentaram imobilidade/letalidade em 24 horas a partir da concentração de 2000 mg L<sup>-1</sup>, CE50 indicado na Figura 1 de 2228 mg L<sup>-1</sup> e efeito a 100% dos organismos apenas com 3000 mg L<sup>-1</sup>. Para a *D. magna*, os ensaios foram realizados com 8 concentrações intermediárias variando de 1750 a 8000 mg L<sup>-1</sup>, e apresentaram imobilidade/letalidade em 24 horas a partir da concentração de 6000 mg L<sup>-1</sup>, CE50 indicado na Figura 1 de 6831 mg L<sup>-1</sup> e efeito a 100% dos organismos apenas com 8000 mg L<sup>-1</sup>. Para a *A. salina* o cloreto não apresentou efeito até uma concentração testada de 15000 mg L<sup>-1</sup>.

Comparando-se os resultados obtidos nos ensaios com as substâncias de referência e com os diferentes lixiviados, pode-se constatar que:

- a) o amônio foi potencialmente tóxico aos organismos-teste *C. dubia* e *D. magna* devido ao fato de que as concentrações encontradas nos lixiviados de estudo foram bem superiores aos valores de CE50<sub>24h</sub> obtidas nos ensaios de sensibilidade;
- b) o cloreto não foi potencialmente tóxico aos organismos-teste *D. magna* e *A. salina*, pois as concentrações encontradas nos lixiviados de estudo foram inferiores aos valores de CE e CL50<sub>24h</sub> obtidas nos ensaios de sensibilidade;
- c) provavelmente, o amônio seja o principal agente tóxico do lixiviado, uma vez que os valores de CE/CL50 obtidos nos ensaios com amônio resultaram na mesma ordem de grandeza das concentrações estimadas de amônio em relação às CE e CL50<sub>24h</sub> para os lixiviados. No entanto, o mesmo fato não foi observado para a *A. salina*, pois os valores das CL50<sub>24h</sub> obtidas nos ensaios de sensibilidade foram bem superiores, indicando que possivelmente, outras substâncias presentes no lixiviado foram responsáveis por conferir toxicidade a este organismo.

## CONCLUSÕES

Os ensaios de ecotoxicidade com as substâncias de referência (amônio e cloreto) e os diferentes lixiviados indicaram que:

- A ordem de resistência obtida para os organismos-teste foi: *A. salina*, *D. magna* e *C. dubia*.
- O amônio é o principal agente tóxico do lixiviado, uma vez que os valores de CE/CL50 obtidos nos ensaios com amônio resultaram na mesma ordem de grandeza das concentrações estimadas de amônio em relação às CE e CL50<sub>24h</sub> para os lixiviados.
- As substâncias de referência podem contribuir para a toxicidade do lixiviado o que requer a adoção de sistemas eficientes de tratamento para remoção dos mesmos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT NBR 12713. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2009.
2. \_\_\_\_\_ 13373. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia spp* (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2010.
3. BRASIL. Resolução CONAMA N° 430 de 13 de maio de 2011. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, 16 mai. 2011. N° 92 p. 89.
4. 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.
5. MOJIRI, Amin; ZIYANG, Lou; TAJUDDIN, Ramlah M.; FARRAJI, Hossein; ALIFAR, Nafiseh. Co-treatment of landfill leachate and municipal wastewater using the ZELIAC/zeolite constructed wetland system. Journal of Environmental Management 166, 124-130, 2015.
6. PABLOS, M.V.; MARTINI, F.; FERNANDEZ, C.; BABIN, M.M.; HERRAEZ, I.; MIRANDA, J. Miranda; MARTINEZ, J.; CARBONELL, G.; SAN-SEGUNDO, L.; GARCIA-HORTIGUELA, P.; TARAZONA, J.V. Correlation between physicochemical and ecotoxicological approaches to estimate landfill leachates toxicity. Waste Management V. 31, p. 1841–1847, 2011.
7. PETROBRAS N-2588. Determinação da toxicidade aguda de agentes tóxicos em relação à *Artemiasp*, 1996.
8. RIBÉ, Veronica; NEHRENHEIM, Emma; ODLARE, Monica; GUSTAVSSON, Lillemor ; BERGLIND, Rune; FORSBERG, Åke. Ecotoxicological assessment and evaluation of a pine bark biosorbent treatment of five landfill leachates. Waste Management. v.32, p.1886–1894, 2012.