



DANILA DE LEONE FRANÇA E FREITAS TORRES

Avaliação da toxicidade de efluente sanitário tratado e condicionado para aplicação na agricultura, utilizando *Allium cepa*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, como organismos-teste.

**CAMPINAS
2012**

ERRATA

Eu, Danila de Leone França e Freitas Torres, ex-aluna do curso de Mestrado em Engenharia Civil, informo que deverá ser consideradas a seguinte errata na página 3:

Onde se lê: DANILA TORRES

Leia-se; DANILA DE LEONE FRANÇA E FREITAS TORRES

Sem mais.

Danila Torres

Danila de Leone França e Freitas Torres



Prof. Dr. Alexandre Nunes Ponezi

Orientador



Prof. Dra. Maria Cecília A. T. da Silva
Coordenadora de Pós-graduação
FEC / UNICAMP - Matrícula 069477

CONFERIDO
PROC. N.º 21P/15932/2020
RUB. 21/54/2022
PRPG 21/54/2022



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E URBANISMO

DANILA DE LEONE FRANÇA E FREITAS TORRES

Avaliação da toxicidade de efluente sanitário tratado e condicionado para aplicação na agricultura, utilizando *Allium cepa*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, como organismos-teste.

Orientador(a): Prof. Dr. Alexandre Nunes Ponezi

Dissertação de Mestrado apresentada a Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA DANILA TORRES E ORIENTADA PELO PROFESSOR DR. ALEXANDRE NUNES PONEZI.

ASSINATURA DO ORIENTADOR

CAMPINAS
2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

T636a Torres, Danila de Leone França e Freitas
Avaliação da toxicidade de efluente sanitário tratado e condicionado para aplicação na agricultura, utilizando *Allium cepa*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, como organismos-teste / Danila de Leone França e Freitas Torres. --Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Alexandre Nunes Ponezi.
Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Esgotos sanitários. 2. Água - Reutilização. 3. Irrigação. 4. Ecotoxicologia. 5. Aberrações cromossômicas. I. Ponezi, Alexandre Nunes. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Título em Inglês: Toxicity assessment of treated sanitary effluent for application in agriculture, using *Allium cepa*, *Vibrio fischeri* and *Daphnia similis* as test organisms

Palavras-chave em Inglês: Sanitary sewers, Water - Reuse, Irrigation, Ecotoxicology, chromosomal aberrations

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Mestra em Engenharia Civil

Banca examinadora: Bruno Coraucci Filho, Carmem Silvia Fontanetti Christofolletti

Data da defesa: 22-08-2012

Programa de Pós Graduação: Engenharia Civil

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE EFLUENTE SANITÁRIO TRATADO E
CONDICIONADO PARA APLICAÇÃO NA AGRICULTURA, UTILIZANDO
Allium cepa, *Daphnia similis* E *Vibrio fischeri*, COMO ORGANISMOS-TESTE.**

Danila de Leone França e Freitas Torres

Dissertação de Mestrado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:



**Prof. Dr. Alexandre Nemes Ponezi
Presidente e Orientador(a) Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP**



**Prof. Dr. Bruno Coraucci Filho
Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP**



**Profa. Dra. Carmem S. Fontanetti Christofolletti
Universidade Estadual Paulista-UNESP**

Campinas, 22 de agosto de 2012

*Aos meus queridos pais, que me transmitiram
grandes vibrações, minha gratidão pelo constante
incentivo.*

Agradecimento

Meus sinceros agradecimentos àqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, sobretudo ao Prof. Dr. Alexandre Nunes Ponezi, pela orientação prestada e pela amizade.

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) por me fornecer a estrutura necessária para o desenvolvimento deste trabalho, ao Laboratório de Saneamento da FEAGRI e ao Laboratório LABPRO da FEC, por possibilitarem a realização da pesquisa. À FINEP e à FAPESP, pelo financiamento do Projeto. À Pós-Graduação da UNICAMP pelo auxílio durante o processo do estudo e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida.

Agradeço aos Profs. Drs. Bruno Couraucci Filho, Carmem S. Fontanetti, Denis Miguel Roston, Edson Aparecido Abdul Nour, Francisco Anaruma Filho, José Roberto Guimarães, Pedro Mancuso, Ricardo de Lima Isaac e Ronaldo Stefanutti, pelas valiosas observações, sugestões e conversas.

À Prof. Dra. Maria Aparecida Marin Morales, pela ajuda na realização de parte dos experimentos no Laboratório de Mutagênese da UNESP de Rio Claro, e especialmente as queridas doutorandas Cintya Christofolletti e Janaína Pedro Escher, por todo o acompanhamento prestado.

Aos colegas da UNICAMP que contribuíram para o meu crescimento profissional e me auxiliaram, em especial aos amigos Cristal Coser de Camargo, Izabela M. Barbosa, Fernando Pena Candello, Gabriela Kurokawa e Guilherme.

Aos colegas da CETESB, em especial Wálace Soares, da SANASA e da MODERNWATER pela prontidão em me auxiliarem na resolução de dúvidas, e muito contribuírem para a realização deste trabalho.

Às minhas queridas avós e tias e aos queridos tios e primos, por me apoiarem durante toda a trajetória. Aos meus estimados amigos por estarem presentes e transmitirem sempre muita força. Por fim, agradeço a você, meu amor, pelo companheirismo, por todo carinho, compreensão, e por acreditar neste estudo.

Resumo

TORRES, D. L. F. F.; **Avaliação da toxicidade de efluente sanitário tratado e condicionado para aplicação na agricultura, utilizando *Allium cepa*, *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*, como organismos-teste.** Campinas: Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo- UNICAMP, 2012. 166f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, UNICAMP, Campinas, 2012.

O uso de efluente tratado na agricultura irrigada constitui uma alternativa adequada para a preservação de mananciais, além de ser uma importante fonte de nutrientes. No entanto, os riscos de toxicidade devem ser avaliados. Testes ecotoxicológicos apresentam-se como uma ferramenta apropriada, devido à sensibilidade dos organismos e sua ampla aceitação por órgãos governamentais e científicos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade aguda na fotobactéria marinha *Vibrio fischeri* e no microcrustáceo *Daphnia similis* (CE50) e do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico em *Allium cepa* (cebola) de um efluente sanitário tratado usado para irrigação. Os ensaios foram realizados no efluente bruto e nos tratados utilizados para irrigação: anaeróbio e pos-tratamento anaeróbio (nitrificado). Os resultados evidenciaram que o efluente bruto, apresentou uma maior variação dos valores de CE50 para ambos os organismos. O efluente anaeróbio apresentou um efeito tóxico agudo maior para *V. fischeri* que para *D. similis*. Já o nitrificado (pos-tratamento anaeróbio) apresentou uma toxicidade aguda menor para ambos os organismos testados. Na avaliação das aberrações cromossômicas em *A. cepa*, os efluentes tratados apresentaram uma redução do potencial citotóxico ($p < 0,05$) em relação ao efluente bruto. Pode-se concluir que os testes escolhidos foram adequados para o monitoramento do efluente. Recomenda-se que o uso de efluente tratado na agricultura seja realizado de forma regrada, atentando para os padrões de Boas Práticas Agrícolas (GAP) e de toxicidade. Além disso, em escala real é necessário um estudo de monitoramento periódico que avalie impactos a longo prazo, incluindo testes de toxicidade crônica.

Palavras-chave: Efluente sanitário; reúso de água; irrigação; ecotoxicologia; CE50, aberrações cromossômicas.

Abstract

TORRES, D. L. F. F. **Toxicity assessment of treated sanitary effluent for application in agriculture, using *Allium cepa*, *Vibrio fischeri* and *Daphnia similis* as test organisms.** Campinas: Civil Engineering, Architecture and Urbanism College - UNICAMP, 2012. 166p. Essay (Master at Civil Engineering, Architecture and Urbanism College), UNICAMP, Campinas, 2012.

The use of the treated effluent in agriculture has proven to be an important alternative, since its preservation of water and its potential as source of nutrients, with low potential for negative impact on the environment. However, toxicity remains an important issue. Ecotoxicological tests are appropriate tools to evaluate the toxicity of effluents. The aim of this study was to evaluate acute toxicity on marine bacteria *Vibrio fischeri*, on micro crustacean *Daphnia similis* (EC50) and on *Allium cepa* (onion) (assessment of cytotoxic, mutagenic and genotoxic potencial) in treated sanitary effluent used for irrigation. We tested the raw effluent, and in its treatments, used for irrigation: anaerobic and anaerobic post-treatment (nitrified). Our results showed that the raw effluent had a greater variation of EC50 for both organisms, due to an intrinsic variability of its composition. The anaerobic effluent had a greater acute toxic effect on *V. fischeri* than for *D. similis*. Yet, the nitrified (anaerobic post-treatment stage) showed a lower toxicity for both tested organisms. We found a reduction in the citotoxic potential in *A. cepa* as compared to the raw effluente. We concluded that the tests chosen were adequate for monitoring the effluent since the organisms showed adequate sensitivity. It is therefore suggested that the use of treated wastewater in agriculture should be standardized, noting Good Agricultural Practices (GAP) and toxicity standards. Furthermore for larger scale assumption it is necessary a periodic monitoring study to assess long term impacts, including chronic toxicity tests.

Keywords: Sanitary effluent, water reuse, irrigation, ecotoxicology, EC50, chromosomal aberrations.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

		Página
Figura 4.1	Área experimental para a realização dos experimentos. HC: Hospital de Clínicas; setas apontando para 1: Estação de Tratamento de Esgoto; 2: Área Experimental. Fonte: GoogleMaps	81
Figura 4.2	Estufa onde estão localizados os canteiros com as rosas. Fonte: Torres, D.L.F.F	82
Figura 4.3	Área interna da estufa mostrando a disposição dos canteiros. Fonte: Torres, D.L.F.F.	83
Figura 4.4	Caixas de recepção do efluente bruto (C1; C2); caixa de armazenamento do efluente anaeróbico; seta indicando a distribuição do efluente para o sistema. Fonte: TONON, 2011 (Adaptado).	85
Figura 4.5	Equipamento utilizado para a realização do ensaio de toxicidade aguda em <i>V. fischeri</i> : Analisador de toxicidade Microtox™500 Analyser. Fonte: TORRES, D.L.F.F.	90
Figura 4.6	Representação do procedimento do teste de toxicidade aguda com <i>V. fischeri</i> . CETESB (2001) Adaptado.	92
Figura 5.7	Classificação de águas para irrigação com destaque para a classificação da água utilizada no presente estudo. Fonte: USDA, 1954.	108
Figura 5.8	Valores de CE50 dos testes de sensibilidade com Sulfato de zinco heptahidratado realizados no período do estudo. Dados do Laboratório de Saneamento da FEAGRI. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha tracejada indicando a média dos valores.	116
Figura 5.9	Carta-Controlle com os valores de CE50 dos testes de referência (NaCl) realizados no período do estudo. Dados do Laboratório de Saneamento da FEAGRI. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha vermelha indicando a média dos valores.	121

- Figura 5.10** Valores de CE50 dos testes de sensibilidade com NaCl realizados no período do estudo. Dados do Laboratório LABPRO, FEC. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha tracejada indicando a média dos valores. **121**
- Figura 5.11** Aberrações cromossômicas obtidas pelo sistema-teste de *Allium cepa* expostos em Efluente Bruto (A,B,C), e tratados: anaeróbio (D,E,F) e nitrificado (G.H.I). Setas apontando para: broto nuclear (A, D, G), ponte cromossômica (B, E, H), C-metáfase (F) e aderência cromossômica (C, I). **130**

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 3.1	Diretrizes da USEPA para o uso agrícola de esgotos sanitários	63
Tabela 3.2	Diretrizes da WHO para o uso agrícola de esgotos sanitários (1986-2005)	64
Tabela 3.3	Diretrizes do PROSAB para uso agrícola de esgotos sanitários	67
Tabela 5.4	Média e Desvio Padrão dos Valores de pH mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011	103
Tabela 5.5	Média e Desvio Padrão dos Valores de Oxigênio Dissolvido mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011	104
Tabela 5.6	Média e Desvio Padrão dos Valores de Condutividade Elétrica mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011	106
Tabela 5.7	Média dos valores de Razão de Adsorção de Sódio (RAS) e Condutividade Elétrica (CE) dos efluentes: anaeróbio e nitrificado	107
Tabela 5.8	Relação entre Razão de Adsorção de Sódio (RAS) e Condutividade Elétrica (CE) para aplicação de efluente no solo (CETESB, 2006)	108
Tabela 5.9	Média dos valores de Razão de Adsorção de Sódio- RAS e Condutividade Elétrica - CE da solução de solo. Valores iniciais antes do cultivo das roseiras e 12 meses após o cultivo	109

Tabela 5.10	Alterações químicas do solo em resposta aos tratamentos empregados na irrigação	110
Tabela 5.11	Média dos valores de remoção da matéria orgânica (DBO, DQO) e porcentagem de eficiência, em relação ao efluente bruto	112
Tabela 5.12	Médias e desvio padrão da concentração de Nitrogênio Amoniacal, Nitrogênio Orgânico, N – NTK, N-NO ₃ ⁻ , N-NO ₂ ⁻ no efluente bruto e nos tratados: anaeróbio e nitrificado	114
Tabela 5.13	Valores CE50 (%) e 95% de Fator de Confiança (95% FC); Unidade de Toxicidade (UT) dos efluentes Bruto e tratados: Anaeróbio e Nitrificado e % de Redução de toxicidade em relação ao efluente bruto, obtidos por meio do teste de toxicidade aguda em <i>V. fischeri</i> utilizando o sistema Microtox™	119
Tabela 5.14	Médias dos parâmetros físicos da água de Cultivo do Laboratório de Saneamento da FEAGRI, quando foi realizado o teste de sensibilidade em <i>D. similis</i>	120
Tabela 5.15	Médias dos parâmetros físicos da água de Cultivo do Laboratório LABPRO, FEC, quando foi realizado o teste de sensibilidade em <i>D. similis</i>	121
Tabela 5.16	Valores CE50 (%) e Fator de Confiança (95% FC); Unidade de Toxicidade (UT) dos efluentes Bruto e tratados: Anaeróbio e Nitrificado e % de Redução de toxicidade em relação ao efluente bruto, obtidos por meio do teste de toxicidade aguda em <i>D. similis</i>	125
Tabela 5.17	Média e desvio padrão dos valores obtidos para o índice de germinação (IG) de sementes de <i>Allium cepa</i> , após a exposição à água ultrapura (controle negativo), ao MMS e à trifluralina (controles positivo) e aos efluentes bruto e tratados: anaeróbio e nitrificado	127
Tabela 5.18	Porcentagem do índice mitótico (IM) obtido, média e desvio padrão dos índices de aberrações cromossômicas (IAC) e do índice de mutagenicidade (IMt) em células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> , após a exposição à água ultrapura (controle negativo), ao MMS e à trifluralina (controles positivo) e aos efluentes bruto e tratados: anaeróbio e nitrificado	129

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABES	Associação Brasileira de Engenharia Sanitária
AFNOR	Association Française de Normalisation
ANDA	Associação nacional para difusão de adubos
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
APP	Área de Proteção Ambiental
ASTM	American Society for Testing and Materials
AWWA	American Water Work Association
CAS	Chemical Abstract Service
CE	Condutividade Elétrica
CE50	Concentração Efetiva Mediana
CETESB	Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CNRH	Conselho Nacional de Recursos Hídricos
DIN	Deutsches Institut für Normung
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPA	Agência de Proteção Ambiental

FAO	Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação)
FEAGRI	Faculdade de Engenharia Agrícola
GAP	Boas Práticas Agrícolas
ISO	International Standardization Organization
LABPRO	Laboratório de Protótipos em Tratamento de Águas e Efluentes
OECD	Organization for Economic Co-Operation and Development
ONU	Organização das Nações Unidas
PNUMA	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
PCP	Produtos de Cuidado Pessoal
POP(s)	Produtos Orgânicos Persistentes
SANASA	Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S.A.
TDH	Tempo de Detenção Hidráulica
UNICAMP	Univesidade Estadual de Campinas
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
WHO	World Health Organization/ Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	15
LISTA DE TABELAS	19
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	23
1. INTRODUÇÃO	31
2. OBJETIVOS	35
2.1 Objetivo Geral	35
2.2. Objetivos Específicos.....	35
3. REVISÃO DA LITERATURA	37
3.1 A água e o seu uso na agricultura	37
3.2 O Reúso da água	39
3.3 Reúso de água para fins agrícolas, suas vantagens e limitações	42
3.3.1 Vantagens do reúso de água para fins agrícolas	43
3.3.2 Limitações do Reúso de água para fins agrícolas	44
3.3.2.1 Sanidade e Sodicidade	45
3.3.2.2 Presença de compostos tóxicos	50
3.4 Sistemas de tratamento de esgoto	54
3.4.1 Sistema de tratamento anaeróbio de esgoto	54
3.4.2 Sistema de pós-tratamento anaeróbio em filtros de areia	57
3.5 Regulamentações para o reúso de água	59
3.6 Ecotoxicologia	69
3.6.1 Teste de Toxicidade Aguda em <i>V. fischeri</i>	74
3.6.2 Teste de Toxicidade Aguda em <i>D. similis</i>	76
3.6.3 Bioensaio com <i>A. cepa</i>	77
4. MATERIAIS E MÉTODOS	81
4.1 Caracterização da área de estudo.....	81
4.2 Considerações sobre a estação de tratamento do esgoto: Sistemas de tratamento e sistemas de operação.....	83
4.2.1 Efluente bruto: caracterização	84

4.2.2 Tratamento do efluente bruto: Tratamento anaeróbio	84
4.2.3 Tratamento do efluente anaeróbio: Filtros de areia	86
4.2.4 Sistema Operacional: Filtros anaeróbios.....	87
4.2.5 Sistema Operacional: Filtros de areia	87
4.3 Sistema de Irrigação	88
4.4 Análise dos efluentes	88
4.4.1 Coleta dos efluentes	88
4.4.2 Análises físico-químicas do efluente	89
4.5 Materiais Biológicos	89
4.5.1 Teste de Toxicidade em <i>V. fisheri</i>	90
4.5.1.1 Avaliação do organismo-teste	91
4.5.1.2 Realização dos testes com as amostras	91
4.5.1.3 Avaliação dos resultados.....	93
4.5.2 Teste de Toxicidade Aguda em <i>D. similis</i>	93
4.5.2.1 Manutenção dos organismos	94
4.5.2.2 Avaliação dos organismos-teste	95
4.5.2.3 Realização dos testes com as amostras	95
4.5.2.4 Avaliação dos resultados	96
4.5.3 Bioensaio com <i>A. cepa</i>	97
4.5.3.1 Avaliação dos resultados	98
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	101
5.1 Análises físico-químicas dos efluentes	101
5.1.1 Temperatura	101
5.1.2 pH	102
5.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD)	103
5.1.4 Condutividade Elétrica (CE)	105
5.1.5 Razão de Adsorção de Sódio (RAS)	106
5.1.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO ₅ e Demanda Química de Oxigênio – DQO e Carbono Orgânico Dissolvido – COD	110
5.1.7 Série de nitrogênio	112
5.2 Análise de toxicidade em organismos-teste	115
5.2.1 Teste de toxicidade aguda em <i>V. fischeri</i>	115
5.2.1.1 Avaliação do organismo-teste	115
5.2.1.2 Avaliação das amostras	116
5.2.2 Teste de toxicidade em aguda em <i>D. similis</i>	120
5.2.2.1 Avaliação do organismo-teste	120
5.2.2.2 Avaliação das amostras	122
5.2.3 Bioensaio com <i>A. cepa</i>	127
6. CONCLUSÃO	133
7. RECOMENDAÇÕES	135
8. REFERÊNCIAS	137
9. ANEXO	161
ANEXO A	163

1. Introdução

A distribuição da água em nosso planeta reúne mais de 97% dela na forma salgada, e menos de 1% na forma doce, para uso, seja na indústria, agricultura, ou para o consumo humano e para a dessedentação de animais (VON SPERLING, 2005). No entanto, a má distribuição deste recurso em relação à concentração populacional, somado a um sistema de gestão muitas vezes inadequado, potencializa os problemas referentes a escassez de água (COSTA, 2007).

O abastecimento de água deve ser pensado sob os aspectos sanitário e econômico, pois o homem tem necessidade de água de qualidade adequada e em quantidade suficiente para todas as suas necessidades, não apenas para proteção de sua saúde, como também para o seu desenvolvimento econômico. Dessa forma, os usos da água implicam em sua retirada de mananciais, e ainda, exigem um tratamento prévio na maioria dos casos, já que os seus destinos solicitam requisitos de qualidade mais adequados (VON SPERLING, 2005).

Portanto, o acesso à água de qualidade adequada e em quantidade suficiente para seus múltiplos fins constitui fundamental importância para a saúde e progresso de toda a população e torna necessária a existência de um sistema de gestão adequado para a utilização dos recursos hídricos, de modo a satisfazer seus usos e finalidades, sem com isso comprometer a qualidade do recurso hídrico de onde a água é retirada.

Considerando os destinos da água, a agricultura irrigada merece especial atenção, já que demanda de uma grande quantidade desse recurso, sendo responsável no Brasil pela retirada de 56% da água (TELLES; DOMINGUES, 2002). Deste modo, a disponibilidade deste recurso muitas vezes atua como um fator limitante ao aumento da produtividade agrícola. Como alternativa a agricultura pode fazer uso de técnicas que reutilizem a água, entretanto essa ação deve ser fundamentada dentro de um plano de gestão adequado, pelos tomadores de decisão (HESPANHOL, 2003).

Segundo a *World Health Organization* (WHO, 2006), o uso de águas residuárias na agricultura é potencializado quando ocorrem fatores como a escassez dos recursos hídricos, seja devida a degradação do corpo hídrico, ou a um aumento populacional que demanda uma maior produção de alimento. Além disso, seu uso pode contribuir para a agricultura, pois a adição de matéria orgânica e a presença de nutrientes contidos nos efluentes tratados podem funcionar como fertilizante, bem como contribuir para um bom condicionamento do solo, aumentando sua capacidade de reter água (WHO, 1989; HESPANHOL, 2003). Esse aspecto apresenta consequências ambientais positivas, como o menor gasto de energia para produzir fertilizantes (SALA; SERRA, 2004).

A presença de matéria orgânica, macro e micronutrientes (BASTOS et al., 2003) geralmente presente nos efluentes sanitários promove a melhoria da fertilidade do solo, além de melhorar a estruturação dos seus agregados (HESPANHOL, 2003). Ademais, o solo pode funcionar como um pós-tratamento devido a sua capacidade intrínseca de adsorver os contaminantes. Tanto assim, que o reúso planejado de água faz parte da Estratégia Global para Administração da qualidade das Águas, proposta pelo Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) e pela Organização Mundial da Saúde (WHO) (CORCORAN, 2010).

Nos vegetais, os macronutrientes (nitrogênio, fósforo, potássio, enxofre, magnésio e cálcio) são geralmente encontrados em concentrações mil vezes maiores que a dos micronutrientes (boro, cloro, cobre, ferro, manganês, molibdênio e zinco). No entanto, além dessas substâncias essenciais aos vegetais, pode ocorrer a presença de uma gama de outros

elementos, como níquel, silício, sódio e outras substâncias inorgânicas que dependendo de suas concentrações podem ser tóxicas (KELLY; UNKOVICH ; STEVENS, 2006).

Isso posto, o reúso de água na agricultura, quando realizado de forma planejada, apresenta-se positivo tanto no aspecto da preservação dos mananciais quanto na melhoria da produtividade da cultura irrigada. No entanto, algumas desvantagens na sua utilização não podem ser desconsideradas. O excesso de aplicação de água ou esgoto durante a irrigação, acima da capacidade de absorção da planta e da capacidade de retenção do solo, pode levar à infiltração e provocar a salinização do solo. Por isso, se não for traçado um planejamento adequado, uma consequência pode ser a recarga do aquífero com possíveis contaminantes como os Produtos Orgânicos Persistentes (POPs) (BASTOS, et al., 2003; KELLY; UNKOVICH; STEVENS, 2006), que são potencialmente tóxicos mesmo em concentrações baixas.

Além das águas subterrâneas, as águas superficiais também podem ser negativamente impactadas caso as águas residuárias as atinjam. A presença da contaminação por patógenos presentes nas águas residuárias podem promover impactos negativos a saúde, se for utilizada para consumo humano, recreação e utilização em indústrias alimentícias (WHO, 2006). A presença de matéria orgânica também pode causar impactos negativos, pois pode ocorrer a oxidação dessa matéria pelo oxigênio dissolvido na água, prejudicando os organismos que vivem nesse ecossistema (BOND, 1998).

Dessa forma, o planejamento deve abranger fatores como: taxa de irrigação adequada ao tipo de cultura; qualidade da água residuária; tratamento do esgoto; vulnerabilidade do aquífero; método utilizado na irrigação; taxa de recarga artificial e natural; qualidade da água presente no aquífero; tempo de irrigação e o tipo de cultura (FOSTER et al, 2003).

Neste sentido, para compreender os níveis de toxicidade de efluentes, ensaios ecotoxicológicos podem ser empregados para avaliação de possíveis impactos ambientais e ainda avaliar a eficiência de estações de tratamento de esgoto quanto à diminuição da toxicidade. Com esse intuito, o presente trabalho tomou como modelo de estudo, o uso de

efluentes sanitário, tratados e condicionados, para a irrigação de uma cultura de rosas (*Rosa* sp).

Os ensaios ecotoxicológicos utilizaram como organismos-teste, a bactéria luminescente marinha *Vibrio fischeri*, o microcrustáceo de água doce, *Daphnia similis* (Crustacea, Cladocera), e sementes de *Allium cepa* (cebola). Os organismos-teste escolhidos constituem-se organismos adequados para a avaliação de toxicidade de efluentes, sendo recomendados por associações normativas nacionais e internacionais como ABNT, ASTM, CETESB, EPA, entre outras. A área de estudo localiza-se em área experimental da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas/SP que recebe na estação de tratamento piloto um efluente hospitalar.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliação da toxicidade aguda dos efluentes sanitários tratados: anaeróbio e pós-tratamento anaeróbio (nitrificado), para aplicação em uma cultura de rosas (*Rosa sp.*)

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliação da toxicidade aguda dos efluentes tratados para *V. fischeri* por meio do sistema Microtox™, observada pelo efeito do decaimento da luminescência da bactéria;
- Avaliação da toxicidade aguda dos efluentes tratados para *D. similis*, observada pelo efeito de imobilidade dos organismos expostos;
- Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade dos efluentes tratados para células meristemáticas de *A. cepa*, germinadas nos efluentes tratados, em tratamento contínuo.
- Monitoramento da toxicidade dos efluentes tratados em comparação com o efluente bruto para avaliar a eficiência do tratamento realizado;

3. Revisão da Literatura

3.1 A água e o seu uso na agricultura

A vital importância que se dá a água deve-se a sua relação íntima com inúmeras reações físicas, químicas e fisiológicas responsáveis pela manutenção da vida animal e vegetal. Portanto, esse bem finito, merece ser quantitativa e qualitativamente cuidado para que seu uso previsto não traga prejuízos a vida. Uma vez que são finitos e a demanda pelo seu uso aumenta proporcionalmente com o aumento populacional e industrial, é crescente a necessidade de se conservar, reciclar e reutilizar os recursos hídricos de forma adequada (SHUVALL, 1977; MILLER, 1990).

Ademais, sua distribuição, não coincide com a concentração populacional que se adensa em áreas de pouca disponibilidade hídrica e ocupam o território de forma desordenada, o que pode contribuir para os eventos de secas e enchentes e assim comprometer as atividades econômicas da população (COSTA, 2007). Há de se destacar ainda a existência de regiões onde a escassez e a má distribuição da água tornam-se fatores limitantes ao seu processo de desenvolvimento econômico (PHILIPPI JUNIOR; BORANGA, 2003).

No Brasil, a vazão de retirada para usos consuntivos no país, no ano de referência de 2000, foi de $1.592 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ (ANA, 2005). Essa vazão correspondente à irrigação representou aproximadamente 56% do total da água retirado, ou seja, captado (ANA, 2005).

No entanto, é importante considerar a vazão de retorno e a vazão de consumo, para se dimensionar o volume de água efetivamente consumido. As vazões de retorno podem ser obtidas a partir da vazão de retirada multiplicando-se pelo coeficiente de retorno, determinado para cada tipo de consumo, e vazão de consumo é calculada pela diferença entre a vazão de retirada e a vazão de retorno (ANA, 2005). Assim, em referência ao consumo propriamente dito, o percentual para irrigação apresenta-se aumentado, atingindo 69% segundo a ANA (2005).

Ante ao exposto, para que a água não se torne um fator limitante ao desenvolvimento agrícola do país, é necessário que se invista em novas tecnologias que busquem aumentar a eficiência da irrigação, e assim reduzir o montante que é captado dos corpos de água.

No entanto, os lentos progressos na gestão dos recursos hídricos, saneamento e higiene, e planejamento familiar agravam as condições já existentes em muitas áreas (FALKENMARK; WIDSTRAND, 1992), mesmo com a edição de leis que regram o uso dos recursos hídricos, como é o caso da Política Nacional de Recursos Hídricos (Lei 9344), de 1997. É perceptivo o atraso de países em desenvolvimento em relação à aplicação de alternativas quanto ao uso consciente de água, o que torna claro a importância do comprometimento de autoridades com o assunto, para a conservação da água, principalmente a longo prazo.

Dessa forma, o uso abundante dos recursos hídricos pode contribuir para a degradação dos mesmos e do ambiente, quando seu uso se faz de forma não planejada, ou seja, não vinculada a um sistema de abastecimento adequado de água e esgoto. Seu uso inadequado pode assim comprometer significativamente a qualidade do recurso. O uso de água para atividades industriais, domésticas podem resultar em alterações em sua qualidade, pois os produtos residuais transportados por ela podem ser tóxicos, e conseqüentemente sua presença pode contribuir para a degradação do ambiente (WHITE; RASMUSSEN, 1998), principalmente quando se considera sua propriedade solvente, que a torna capaz de transportar substâncias, e incorporar a si diversas impurezas (VON SPERLING, 2005).

Estima-se que ocorra 46 milhões de substâncias químicas sendo que 26 milhões estão em uso (CAS, 2010).

Assim, a quantidade de um recurso hídrico define a estrutura e as funções de um ambiente participando desde a assimilação de nutrientes pelas raízes das plantas até a reprodução e a proteção dos organismos (BRANCO, 1999). Por sua vez, sua qualidade é conferida pelo ambiente de origem, por onde circulam percolam ou por onde são armazenadas (REBOUÇAS, 2006), bem como resulta da combinação de fenômenos naturais e antrópicos em relação às condições naturais e ao uso e ocupação do solo das bacias hidrográficas (VON SPERLING, 2005).

Para que seja possível atingir um equilíbrio entre a demanda de água e a conservação de sua qualidade e quantidade, fica claro que a prática do reúso da água torna-se uma alternativa importante, devido principalmente às incoerências entre sua demanda e sua disponibilidade.

3.2 O reúso da água

Segundo Brega Filho e Mancuso (2003) e Costa (2007) subentende-se ao reúso uma tecnologia de maior ou menor grau dependendo dos fins a que se destina e de seu uso anterior. Para Lavrador Filho (1987) o reúso é ainda uma estratégia eficaz para a conservação dos recursos hídricos com consequentes benefícios econômicos e ambientais. Considerando os destinos da água, a agricultura irrigada é responsável no Brasil por 56% de todo o volume retirado do recurso (ANA, 2005; TELLES; DOMINGUES, 2002), sendo seguida pelo setor industrial, responsável por 25% (SANTOS; MANCUSO, 2003). Esse panorama aponta a necessidade de se explorar um novo uso para a água, mediante tratamento adequado, que possibilite o seu reúso (SANTOS; MANCUSO, 2003; HESPANHOL, 2003), que deve ser estimulado, dentro de um plano de gestão adequado (HESPANHOL, 2003), para não comprometer a saúde ambiental.

De acordo com a publicação da WHO (1973), o reúso de água pode ocorrer de maneira direta ou indireta. O reúso indireto ocorre quando uma água, previamente utilizada em domicílios ou indústrias, é descarregada nas águas superficiais ou subterrâneas e é novamente utilizada a jusante, de forma diluída. Já o reúso direto ocorre quando há um planejamento da ação para determinadas atividades como irrigação, uso industrial, recarga de aquífero ou água potável. Por fim, a reciclagem de água refere-se ao seu reúso internamente às instalações industriais, objetivando a economia de água e o controle de poluição.

Sumarizando, o reúso pode ocorrer de forma intencional ou não intencional, ou, como mais tarde conceituado, de forma planejada ou não planejada. Além disso, o conceito de reciclagem estende-se para outros usos (BREGA FILHO; MANCUSO, 2003).

Lavrador Filho (1987), em seu estudo sobre reúso planejado de água, para efeito de uniformização de linguagem, define o reúso de água como o aproveitamento de água previamente utilizada, uma ou mais vezes, que supre as necessidades de outros usos benéficos, inclusive o original, podendo ser direto ou indireto, bem como decorrer de ações planejadas ou não.

Por um lado, o reúso indireto não planejado é aquele em que a reutilização da água a jusante, diluída, ocorre de forma não planejada. Nesse caso, o reúso da água é um subproduto não intencional da descarga a montante. Dessa forma, o efluente, após sua descarga no meio ambiente, será diluído e sujeito a processos como autodepuração, sedimentação, entre outros. Por outro lado, o reúso indireto planejado refere-se aquele em que o efluente é convenientemente tratado e descarregado, de forma planejada, em corpos de água para ser posteriormente utilizado à jusante, em forma diluída, e de modo controlado, com algum intuito prévio.

Por fim, o reúso direto planejado ocorre quando o efluente, após tratamento adequado, é direcionado diretamente a seu ponto de descarga até o local do reuso, caso do presente estudo. Já a reciclagem de água é um caso particular de reúso direto, em que o reúso, antes de

sua descarga em um sistema de tratamento ou outro local de disposição, serve como fonte de suplemento do uso original (LAVRADOR FILHO, 1987).

Em 1992, a Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES) publicou o “Caderno de Engenharia Sanitária e Ambiental”, em que classifica o reúso da água em duas categorias: potável e não potável, de acordo com a classificação de Westernoff (1984), que considera o reúso para fins potáveis em direto e indireto (PHILIPPI JUNIOR; BORANGA, 2003). Segundo Westernoff (1984), o reúso potável direto ocorre por meio de tratamento avançado sendo diretamente utilizado no sistema de água potável. Já o reúso potável indireto ocorre quando o esgoto tratado é disposto na água para diluição, purificação natural e consequente captação, tratamento e, por fim, utilização (LAVRADOR FILHO; 1987; BREGA FILHO; MANCUSO, 2003).

O reúso não potável, de acordo com os critérios adotados pela ABES em 1992, pode ser distintos em sete práticas diferentes, tais como:

- para usos agrícolas e suas finalidades, em que o objetivo é a irrigação de cultivos alimentícios ou não;
- para usos industriais, incluindo processos de refrigeração, utilização em caldeiras, entre outros;
- para usos recreacionais, reservada à irrigação de plantas ornamentais, parques, entre outros usos similares;
- para usos domésticos, em rega de jardins, descargas sanitárias;
- para manutenção de vazões com o uso planejado de efluentes tratados;
- para aquicultura, na prática de produção de peixes e plantas aquáticas em que se utiliza o efluente tratado como fonte nutricional;
- para recarga de aquíferos subterrâneos, que pode ser de forma direta ou indireta (ABES, 1992).

3.3 Reúso de água para fins agrícolas, suas vantagens e limitações

Inquestionavelmente obter uma produção agrícola com qualidade e quantidade compatível ao mercado é o principal objetivo dos produtores, e esse caráter competitivo pode justificar o excessivo uso de agrotóxicos, fármacos, fertilizantes, antibióticos e terapêuticos. Esses produtos são rotineiramente aplicados nas produções agropecuárias com objetivo de aumentar a eficiência da produtividade, bem como o bem estar do animal (GESAMP, 1997).

Todavia, uma mesma produção agrícola pode ser conseguida por meio de técnicas alternativas, como o reúso direto planejado de água já que o uso de efluentes pode constituir uma importante fonte de nutrientes, o que ajuda na reciclagem de nutrientes, diminui os custos com fertilizantes e os gastos de energia para a produção (SALA; SERRA, 2004; TELLES; DOMINGUES, 2006). Ademais a matéria orgânica presente nos efluentes pode atuar como um condicionador de solo, aumentando sua capacidade de reter água (HESPANHOL, 1994, 1997; COSTA, 2007).

Quando o objetivo do reúso é a irrigação visando um aumento da produtividade, as taxas de aplicação de esgoto devem ocorrer de acordo com as Boas Práticas Agrícolas (GAP) considerando também as características do solo e da água, das condições climáticas, o tipo de cultura irrigada, e o tipo de irrigação (BASTOS et al., 2003).

O conceito de Boas Práticas Agrícolas (GAP) refere-se as práticas de produção de alimentos com segurança alimentar, qualidade, e sustentabilidade ambiental. Pilares que tem evoluído nos últimos anos no contexto de uma economia alimentar em rápida mudança. Atualmente a GAP é formalmente reconhecida no âmbito regulamentar internacional para reduzir os riscos associados ao uso de pesticidas, tendo em conta a saúde pública e ocupacional, as considerações ambientais e de segurança. No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em colaboração com a FAO, tem apresentado orientações específicas para cultivo de alimentos, como melão, manga, legumes, laticínios e carnes com base no GAP, para pequenos, médios e grandes produtores (FAO, 2003).

Portanto, para que a prática do reúso seja benéfica à cultura irrigada e não traga prejuízos ao meio ambiente, alguns fatores devem ser considerados. É importante que se estime de forma adequada a demanda de água necessária à irrigação, avaliando para isso parâmetros como evapotranspiração, perdas por percolação e escoamento superficial (EPA, 2004). Segundo Von Sperling (2005) a água para irrigação deve ser isenta de substâncias químicas ou organismos prejudiciais à saúde, além de não poder ter salinidade excessiva, entre outros aspectos importantes que serão posteriormente apresentados.

Em referência ao reúso agrícola, países da Europa e Oceania têm demonstrado um crescente avanço na aplicação desses sistemas. Na Austrália, por exemplo, para superar a demanda de água e a poluição, o reúso de água para a agricultura integra o sistema de gestão de recursos hídricos nos estados como Austrália do Sul e Tasmânia (DINESH; SICKERDICK; LISTON, 2006).

No Brasil, por sua vez, estudos desenvolvidos pelo Programa de Saneamento Básico (PROSAB) financiado com os recursos da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), (CAMPOS, 1999; BASTOS, 2003; MOTA; VON SPERLING, 2006) trazem considerações importantes sobre a aplicação de esgoto em sistemas de irrigação. Esse aumento observado pode ser potencializado pela dificuldade crescente de se identificar fontes alternativas de água para irrigação; pelo custo elevado de fertilizantes; baixo risco de contaminação do solo, entre outros (HESPANHOL, 2003; WHO, 2006).

3.3.1 Vantagens do reúso de água para fins agrícolas

O reúso para fins agrícolas, quando bem projetado, apresenta vantagens tanto econômicas, como ambientais (GALLEGOS et al., 1999; HESPANHOL, 2003; SALA; SERRA, 2004; TOZE, 2006; COSTA, 2007; PIVELI, 2008; BAKOPOULOU; EMMANOUIL; KUNGOLOS, 2011), uma vez que uma gestão adequada promove uma melhora na produtividade das plantas e na fertilidade do solo (RUSANA; HINAAWI;

ROUSAN, 2007). O uso de efluentes de sistemas convencionais de tratamento apresenta uma concentração de nitrogênio e fósforo total que reduz ou elimina a necessidade do uso de fertilizantes comerciais (HESPANHOL, 2003; SALA e SERRA, 2004).

O reúso de água na agricultura contribui para a racionalização do uso da água bruta, principalmente em áreas dependentes apenas de irrigação natural, pois sua captação em mananciais é reduzida. Consequentemente ao reúso pode ocorrer uma minimização das descargas de esgoto em corpos de água devido a reciclagem de efluentes. No solo, a presença de matéria orgânica pode favorecer a conservação do solo, aumentando sua capacidade de reter água (HESPANHOL, 1994, 1997; COSTA, 2007).

3.3.2 Limitações do reúso de água para fins agrícolas

Apesar dos benefícios os fatores de risco devem ser considerados (TOZE, 2006). Em curto prazo, dependendo do potencial de contato humano, animal ou ambiental pode ocorrer uma contaminação por patógenos. A longo prazo pode ocorrer a sodificação do solo (TOZE, 2006) e o aumento na concentração de nitrato (GALLEGO et al. 1999), compostos tóxicos (FOSTER et al, 2003; PAGANINI, 2003; KÜMMERER, 2009), e um prejuízo dos padrões de qualidade do solo e da cultura irrigada (RUSAN; HINAAWI; ROUSAN 2007).

Dentre os aspectos limitantes que podem ocorrer como resultados de uma prática de reúso mal planejada, alguns merecem especial atenção por serem de interesse agrícola e sanitário: os riscos de salinidade; de contaminação biológica ou por metais pesados e a possível contaminação dos lençóis freáticos. Tais aspectos são classificados, segundo Paganini (2003), como aspectos notáveis no reúso agrícola, e podem ser considerados a médio ou longo prazo.

Pode-se dessa forma compreender que o reúso direto da água em solos agrícolas pode causar problemas de contaminação do solo com metais pesados, como o cobre e zinco,

além do sódio, e ainda ocasionar uma contaminação da água subterrânea com nitrato e patógenos (GALLEGO et al. 1999; BERTONCINI, 2008), principalmente quando ocorre a lixiviação de compostos presentes na água não assimilados pela cultura irrigada (BOND; SMITH, 2006).

A quantidade de nutrientes necessários para a cultura irrigada pode ser calculada pela demanda do vegetal em relação a habilidade do solo em disponibilizar nutrientes. Assim, quando a quantidade de nutrientes disponível na água não corresponde à necessidade do vegetal pode ocorrer uma fertilização excessiva (KELLY; UNKOVICH; STEVENS, 2006), uma possível contaminação do solo, um comprometimento na produtividade da cultura e ainda a lixiviação de substâncias como o nitrato, e a subsequente contaminação de lençóis freáticos (BASTOS, et al., 2003).

3.3.2.1 Salinidade e Sodicidade

Uma alta salinidade pode ocasionar danos ao solo e vegetação irrigada. Isso se deve a salinidade estar diretamente relacionada ao potencial osmótico do solo, que por sua vez interfere na fisiologia do vegetal. Uma diminuição deste potencial pode diminuir o desenvolvimento da planta devido a um excesso de gasto energético do vegetal em busca do equilíbrio osmótico.

Um dos principais impactos negativos sobre o solo é a redução da capacidade de infiltração de água no perfil do solo, que pode causar uma deficiência na condutividade hidráulica e conseqüentemente reduzir a disponibilidade de água para a cultura (TOZE, 2006). Concomitantemente, isso pode contribuir para uma perda no crescimento do vegetal, pois o acúmulo de sais dentro do sistema radicular das plantas inibe a sua germinação e o seu crescimento (PAGANINI, 2003). Os efeitos dos sais relacionam-se ainda com fatores, como tipo de solo, condições de climáticas, espécie vegetal, estágio fenológico, tipo de sais,

intensidade e duração do estresse salino, manejo da cultura e da irrigação e (MUNNS, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2009).

O excesso de sal na água não é benéfico, pois pode provocar a diminuição de absorção de água pela planta, degradar as características físicas do solo (VARALLO et al., 2010) e ainda contribuir para a precipitação de resíduos, principalmente quando a irrigação é praticada em dutos pressurizados e há o uso de fertilizantes (BURT; O'CONNOR; RUEHR, 1995). Por isso, esses parâmetros devem ser monitorados e avaliados rotineiramente.

Uma dificuldade apontada por Halliwell e colaboradores (2001) quanto a mensuração da salinidade do solo refere-se à diferença entre sistemas laboratoriais e de escala real. Em sistemas ideais, tais como aqueles empregados em muitas investigações laboratoriais, pode-se facilmente prever como o sistema argila-água vai reagir. No entanto, tais sistemas raramente se comportam igualmente em condições de campo. Pode-se dizer que os efeitos de sódio a partir de irrigação de águas residuais são muitas vezes latentes. Como não é fácil prever a taxa de salinização, a Organização Mundial da Saúde recomenda que se monitore periodicamente a salinidade da água de irrigação, bem como do solo (WHO, 2006).

Com o aumento da concentração de sódio no solo, a mobilidade eletroforética das partículas de argila aumentam, proporcionando um inchaço na dispersão dessas pequenas partículas, o que pode contribuir para uma impermeabilização do solo (HALLIWELL et al., 2001; PAGANINI, 2003). Em alguns casos ocorre o aumento da salinidade do solo (SURAPANENI; OLSSON, 2002). Quando isso ocorre sugere-se que se realize um manejo do solo para remoção desses sais excedentes, por exemplo, pela lixiviação do sódio a partir da estrutura do solo por irrigação periódica com água com menor salinidade (SURAPANENI; OLSSON, 2002).

A salinidade da água de irrigação é um importante parâmetro a ser considerado, no entanto, de acordo com Paganini (2003), não deve ser observada isoladamente, pois alguns fatores referentes ao tipo de solo ou de cultura podem atenuar ou acentuar aparentes níveis de

salinidade. Por isso deve-se considerar também a presença de sódio, cálcio e magnésio, além da condutividade elétrica e a alcalinidade de carbonato e bicarbonato (PAGANINI, 2003).

A qualidade da água pode ser classificada de acordo com a categorização proposta pelo Laboratório de Salinidade dos Estados Unidos, publicada em 1954 e também recomendada pela EMBRAPA e pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos- USDA. Tal classificação apresenta um diagrama que considera a RAS e a concentração total de sais relacionando-as em duas categorias: quanto aos perigos salinidade, representada pela letra C e quanto aos perigos de sodificação, representada pela letra S. Por sua vez, cada uma dessas duas categorias apresentam quatros níveis de intensidade: baixo (1), médio (2), alto (3) e muito alto (4). Dessa forma, as classes podem ser definidas quanto ao perigo de salinidade, e quando ao perigo de sodificação (alcalinização) (Figura 5.7).

Tomando como base os perigos de salinidade, as águas se dividem em quatro classes: salinidade baixa, salinidade média, salinidade alta e salinidade muito alta, sendo os pontos divisórios entre classes 250, 750 e 2.250 μScm^{-1} .

- C1- Água de baixa salinidade ($< 250 \mu\text{Scm}^{-1}$ de CE): pode ser usada para irrigação na maior parte dos cultivos em quase todos os tipos de solo, com pouca probabilidade de desenvolver problemas de salinidade;
- C2 - Água de salinidade média, com conteúdo de sais entre 250 e 750 μScm^{-1} : pode ser usada sempre que houver um grau moderado de lixiviação. Plantas com moderada tolerância aos sais podem ser cultivadas, em muitos casos, sem necessidade de práticas especiais de controle da salinidade;
- C3 - Água com alta salinidade, com conteúdo de sais de 700 a 2.250 μScm^{-1} : não pode ser usada em solos com drenagem deficiente e mesmo com drenagem adequada, podem ser necessárias práticas especiais para controle de salinidade e só deve ser aplicada para irrigação de plantas tolerantes aos sais;

- C4 - Água com salinidade muito alta, com mais de $2.250 \mu\text{Scm}^{-1}$: não pode ser usada em condições normais, apenas ocasionalmente, em circunstâncias muito especiais, tais como em solos muito permeáveis e plantas altamente tolerantes aos sais.

Quanto ao Perigo de Sodificação (Alcalinização) que expressa à atividade relativa dos íons de sódio em reações de intercâmbio catiônico com o solo, as águas também se classificam em quatro classes: baixo, médio, alto e muito alto, a depender dos valores da RAS e da CE, para valor de CE de $100 \mu\text{Scm}^{-1}$. Os pontos de divisão se encontram em valores para RAS de 10,18 e 26, entretanto, com uma maior salinidade, os valores para RAS diminuem progressivamente até $2.250 \mu\text{Scm}^{-1}$ em que os pontos divisórios se encontram para valores de RAS de, aproximadamente, 4, 9 e 14 (AALISON, 1966).

- S1 - Água com baixo teor de sódio: pode ser usada para irrigação em quase todos os solos, com pouco perigo de desenvolvimento de problemas de sodificação;
- S2 - Água com teor médio de sódio: devem ser usadas apenas em solos de textura arenosa ou em solos orgânicos de boa permeabilidade, uma vez que em solos de textura fina (argilosos) o sódio representa perigo;
- S3 - Água com alto teor de sódio: pode produzir níveis tóxicos de sódio trocável na maior parte dos solos, necessitando assim de práticas especiais de manejo tais como: drenagem, fácil lavagem, aplicação de matéria orgânica;
- S4 - Água com teor muito alto de sódio: geralmente inadequada para irrigação exceto quando a salinidade for baixa ou média ou o uso de gesso ou outro corretivo torne possível o uso dessa água.

Ainda que os métodos propostos para classificação das águas para irrigação apresentem certas diferenças, praticamente todos concordam, de forma razoável com os critérios de classificação e os limites para essa classificação (CORDEIRO, 2001).

Dessa forma, os limites que tornam viável o tratamento por disposição são fixados com base RAS, (eq. 3.1).

$$RAS = \frac{Na^+}{\sqrt{\frac{Ca^{2+} + Mg^{2+}}{2}}} \quad (3.1)$$

, em que as concentrações de íons são expressas em miliequivalentes/litro (meq/L).

Como a prática do reúso necessita cuidado para que seja benéfica, recomenda-se, então, cuidados especiais com a operação e manutenção, pois, quando bem concebido, construído e, principalmente bem operado e mantido adequadamente, um sistema de reúso por disposição no solo pode transformar potenciais fortes de poluição em fontes de produtividade agrícola, com seus “efeitos colaterais” perfeitamente mantidos sob controle (PAGANINI, 2003).

No entanto, os riscos à saúde humana e ao ambiente, associados ao reúso da água preocupam a sociedade pela poluição dos recursos hídricos e pelas limitações das técnicas de tratamento de água, que não removem todas as substâncias indesejáveis da água. Dessa forma, é preciso traçar relações de equilíbrio de risco/benefício e custo/eficácia (NARDOCCI, 2003).

Dessa maneira, o planejamento adequado permite sem dúvidas, que a prática do reúso seja realizada de modo não prejudicial ao meio ambiente nem à saúde pública. Para isso, o planejamento deve seguir as recomendações de caráter normativas, bem como a legislação pertinente, além de reger-se dentro de um sistema que avalie parâmetros físico-químicos do efluente a ser utilizado. Isso significa que é necessário um monitoramento contínuo durante a prática do reúso. No entanto, todo esse cuidado pode ser tornar falho, se não houver uma preocupação quanto a sua toxicidade em relação a um organismo-teste adequado.

3.3.2.2 Presença de compostos tóxicos

A matéria orgânica natural, geralmente encontra-se na água de consumo, ou pode ser formada durante o processo de tratamento, como os ácidos orgânicos simples e esteróis. Os subprodutos formados pela desinfecção por cloração são principalmente os trihalometanos e ácidos haloacéticos, que podem apresentar ação tóxica, mutagênica, carcinogênica ou ainda causar efeitos teratogênicos (MORRIS et al., 1992; SIMPSON; HAYER, 1993).

Os compostos orgânicos sintéticos que se originam pela adição de substâncias de efluentes industriais, hospitalares e residenciais muitas vezes não podem ser removidos durante o processo de tratamento convencional (DREWES; JEKWL, 1998). Esses compostos incluem pesticidas, compostos aromáticos, ftalatos, surfactantes, hormônios, disruptores endócrinos fármacos, produtos de cuidado pessoal – PCP, entre outros (YING G., 2006; WHO, 2006).

Acerca da presença de fármacos nas águas de abastecimento, segundo Tambosi (2008) alguns dos efeitos adversos incluem toxicidade aquática, desenvolvimento de resistência em bactérias, genotoxicidade, e desregulação endócrina.

A presença de disruptores endócrinos em águas residuárias e no ambiente podem alterar a estrutura ou função(s) do sistema endócrino e causar efeitos adversos aos organismos, às populações ou subpopulações de organismos (EPA, 1998). Sua presença decorre de substâncias que contenham etinilestradiol, comumente encontrados em pílulas contraceptivas e em tratamento de pós-menopausa, estrogênios, fitoestrogênios, pesticidas e produtos químicos como o bisfenol A, nonilfenol e metais pesados (LINTELMANN et al., 2003). Estudos apontam que até mesmo compostos encontrados em partes por trilhão (ppt), como o etinil estradiol e os estrógenos naturais podem perturbar o sistema hormonal de organismos aquáticos (de MÊS; ZEEMAN; LETTINGA, 2005).

Concentração de antibióticos presentes em esgoto, mesmo em níveis baixos, podem promover a resistência de microrganismos (MATHAI; JONES; PFALLER, 2001; BUJDÁKOVÁ et al., 2003; TAMBOSI, 2008), ou a diminuição da microbiota (KÜMMERER et al., 2000), o que tem direta relação com a eficiência da degradação da matéria orgânica nos processos de tratamento de efluentes (KÜMMERER, 2009). Kümmerer (2009) ainda destaca que muitos desses efeitos só são notados em tempos maiores de exposição, e que além disso, os efeitos variam de acordo com o tipo de bactéria (gram-negativa ou gram-positiva) e com o tipo de tratamento (anaeróbio ou nitrificação).

Por isso, pesquisar formas mais eficientes de remoção desses compostos é muito importante, uma vez que mesmos em concentrações muito baixas, seus efeitos potenciais a longo prazo não devem ser desprezados (AGA, 2008). Ao mesmo tempo, estudos recentes demonstram que alguns subprodutos gerados a partir da biodegradação de fármacos não são muito diferentes de seus compostos iniciais (INGERSLEV; HALLING-SORENSEN, 2000), e por isso há uma necessidade de investigação quanto aos problemas relacionados com esses subprodutos, para que os riscos não sejam negligenciados (AGA, 2008).

Basicamente ocorrem dois processos importantes durante o tratamento de esgoto que atingem os fármacos: a adsorção em sólidos suspensos (lodo de esgoto) e posteriormente a biodegradação (TAMBOSI, 2009). Após a adsorção, que é diretamente dependente das características do fármaco (hidrofobicidade e interações eletrostáticas), o processo de biodegradação é sugerido para eliminação de fármacos durante o tratamento de esgoto, que pode ocorrer de forma aeróbia ou anaeróbia.

Wang e colaboradores (2003) apresentaram resultados significativos quanto a mineralização de ftalato em um sistema de tratamento de efluente que utilizou cepas puras de bactérias. Já de Mês; Zeeman; Lettinga (2005) encontraram dificuldade na degradação de alguns estrógenos.

Apesar de alguns fármacos como analgésico serem removidos por sistemas de tratamento com elevado tempo de detenção hidráulica, associados a processos de nitrificação

e desnitrificação, outros como a carbamazepina e primidona podem persistir ao tratamento secundário ou terciário, não apresentando reduções significativas (DREWES; HEBERER; REDDERSEN, 2002). De uma forma geral, processos de tratamento convencionais de efluentes não se mostram capazes de remover contaminantes farmacêuticos em condições normais de funcionamento (SILVEIRA, 2004; AGA, 2008; SILVA; TAVARES; ABREU, 2009).

No entanto, vale ressaltar que apesar dos estudos sobre eficiência de eliminação durante o tratamento em ETEs ocorrem variações conforme a planta, tecnologia de tratamento, tempo de detenção hidráulica, estações do ano e desempenho da ETE, o que demonstra que as eficiências de remoção são variáveis, até mesmo para o mesmo composto em diferentes ETEs (TAMBOSI, 2008). Perez, Eichhorn e Aga (2005) observaram uma biodegradação significativamente mais elevada em antibióticos como iopromida e trimetoprim em reatores onde a nitrificação não foi inibida.

Alguns sistemas de tratamento que utilizam processos de oxidação avançada (POA) (TAMBOSI, 2008; SILVA; TAVARES; ABREU, 2009), processos de filtração ou osmose reversa apresentam resultados mais significativos quanto a remoção de fármacos ou de produtos utilizados na limpeza de unidades hospitalares, como derivados clorados, fenólicos e sintéticos (SILVEIRA, 2004). No entanto, a tecnologia de processos de tratamento como lodos ativados, carvão ativado, ozônio, biorreatores com membranas, não é facilmente acessível as redes de esgoto municipais (TERNES et al., 2004; TAMBOSI, 2008).

Nutrientes em excesso, especialmente o nitrogênio, podem comprometer a produtividade da cultura e resultar em problemas ambientais, principalmente a lixiviação de nitratos, e a subsequente contaminação de lençóis freáticos haja vista sua alta mobilidade no solo (BASTOS et al., 2003; MARQUES et al., 2003; BALKS; BOND, SMITH, 2006).

O nitrogênio ocorre em três formas na água tratada: nitrogênio orgânico, amônio e nitrato (KELLY; UNKOVICH; STEVENS, 2003). Apesar de ser um dos elementos mais abundantes na atmosfera terrestre, no solo é um elemento muito dinâmico, cuja demanda se

relaciona com a fase de desenvolvimento e o tipo de vegetal (MARQUES, et al., 2003). Os processos de mineralização, nitrificação e desnitrificação ocorrer tanto no tratamento do efluente quanto no solo (ADIN, 1998).

Além disso, o nitrato pode contribuir para os riscos de eutrofização em corpos de água e ocasionar danos a saúde de animais e a humana (KELLY; UNKOVICH; STEVENS, 2003). Quando transformados em nitrito pode ocorrer uma mal formação fetal em gestantes e ainda provocar a metahemoglobinemia, que afeta a absorção de oxigênio pelo sangue (TELLES; DOMINGUES, 2006).

O uso de agrotóxicos e pesticidas em culturas agrícolas aumenta a concentração de metais pesados totais no solo, uma vez que esses elementos fazem parte da composição dos defensivos (RAMALHO et al., 2000). Além disso, seu uso pode ser um agravo a problemas de saúde pública, tais como: irritações na pele e nos olhos, problemas respiratórios, câncer em vários órgãos e distúrbios sexuais, como a impotência e a esterilidade (ANVISA, 2008).

A emissão de agentes químicos pelo homem provoca um acréscimo da sua concentração nos recursos naturais, o que dificulta a resolução desse problema considerando que apenas dois mil desses agentes químicos possuem seus efeitos tóxicos conhecidos (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2006). Além disso, instrumentos, mecanismos e tecnologias empregados para essa questão carecem ainda de estudos que contribuam para produzir um melhor resultado sanitário, ambiental e econômico (PHILIPPI JUNIOR; BORANGA, 2003).

A redução do consumo de agrotóxicos, bem como a proibição do uso de produtos que comprovadamente ameaçam a segurança alimentar e ocupacional, e a redução da toxicidade dos produtos usados contribuem para melhorias na saúde da população e na qualidade do meio ambiente, sendo, portanto, metas do desenvolvimento sustentável. Contudo, atingir esse cenário mantendo ou aumentando a produtividade agrícola, muito dependente de insumos, constitui um grande desafio (IBGE, 2010).

Sem dúvidas conhecer o potencial efeito tóxico de cada substância apresenta considerável importância para a proposição de correções quanto a possíveis danos. No entanto, em escala real, muitas vezes o efeito tóxico presente não se relaciona com apenas uma substância, mas sim com um conjunto delas. Por isso, mais importante que os possíveis efeitos de cada substância é considerar o potencial tóxico aditivo. Além disso, níveis de concentração das substâncias presentes e a interação entre elas, bem como características físicas do local, mudanças climáticas, ações antrópicas envolvidas, além de outras características tornam cada ambiente peculiar, ou seja, responsável por suas próprias características.

3.4 Sistemas de tratamento de esgoto

Devido aos inúmeros tipos de sistemas de tratamento de esgoto, serão enfatizados no presente estudo apenas os tratamentos que foram realizados em questão, que foram concebidos visando posterior aplicação no solo, para agricultura: sistema de tratamento anaeróbio e pós-tratamento anaeróbio em filtros de areia. Vale ressaltar que a escolha adequada deve considerar o impacto ambiental do lançamento no corpo receptor, o objetivo do tratamento, a eficiência de remoção desejada, o nível do tratamento (preliminar, primário, secundário e terciário) (VON SPERLING, 2005), as tecnologias a serem utilizadas (que devem ser compatíveis com a necessidade), a possibilidade da construção e operação do sistema (BAHGAT et al., 1999).

3.4.1 Sistema de tratamento anaeróbio de esgoto

O sistema de tratamento anaeróbio de esgotos ocorre em condições anóxicas, e desse modo as reações que removem a matéria orgânica dependem da ação metabólica dos microorganismos anaeróbios. Assim, as reações de compostos orgânicos complexos presentes

no esgoto resultam em produtos mais simplificados, tais como: gases metano, carbônico e a água (METCALF & EDDY Inc., 2003).

A compreensão teórica do funcionamento do tratamento anaeróbio de esgoto sanitário foi um processo relativamente longo, dado que as primeiras experiências com esse sistema de tratamento datam de 1882, na França, com o desenvolvimento da Fossa Automática Mouras, que liquefazia o material em suspensão, sendo funcional apenas para materiais bem particularizados ou concentrados (McCARTY, 1982).

Foram inúmeras as contribuições posteriores, mas somente em 1960 o processo anaeróbio ampliou suas fronteiras de aplicação a partir da utilização de filtros de fluxo ascendente (YOUNG; McCARTY, 1969). No entanto o desenvolvimento dessa tecnologia só foi possível em conjunto com a compreensão dos processos microbiológicos, bioquímicos, termodinâmicos e cinéticos envolvidos (FORESTI et al., 1999).

A digestão anaeróbia ocorre principalmente pela ação de bactérias heterotróficas por meio de duas vias metabólicas: anabólica, em que ocorre a síntese de material celular e catabólica, em que ocorre a conversão do material orgânico em produtos estáveis e a liberação de energia necessária para o mecanismo anabólico (FORESTI et al, 1999).

A remoção da matéria orgânica é facilitada nesse processo pela formação do metano, pois sua baixa solubilidade na água facilita a remoção do material orgânico na fase líquida, embora o material orgânico não seja mineralizado como nos tratamentos aeróbios. No entanto, podem ocorrer a presença de alguns oxidantes alternativos, que permitam o desenvolvimento de bactérias que usam o catabolismo oxidativo, como o nitrato, que pode ser reduzido a nitrogênio molecular pelo processo de desnitrificação, e o sulfato, que pode ser reduzido a sulfeto. O primeiro processo é mais incomum uma vez que a concentração de nitrato em efluente sanitário é baixa (FORESTI et al, 1999).

Para aperfeiçoar ainda mais a digestão anaeróbia é muito importante a criação de condições favoráveis aos microorganismos envolvidos, uma vez que são eles os responsáveis

pelo processo. Dessa forma, os sistemas de tratamento devem ser capazes de manter uma grande biomassa de bactérias ativas e também facilitar o contato do material orgânico presente com a biomassa bacteriana. Além disso, fatores como temperatura, pH, presença de nutrientes e ausência de materiais tóxicos devem ser constantemente monitorado (FORESTI et al., 1999). Uma vantagem desse sistema de tratamento é a reduzida produção de lodo, o que contribui para uma economia com gastos para o tratamento de esgoto e disposição final do lodo. No tratamento ocorre elevada remoção de material orgânico suspenso e solúvel, inclusive substâncias tóxicas, como os fenóis, porém a remoção de nutrientes é baixa (SPEECE, 1996; METCALF & EDDY Inc., 2003; CHERNICHARO, 2007).

Além disso, os sistemas de tratamento anaeróbio apresentam custo reduzido de energia, pequena área requerida, menor custo de implantação e possibilidade de recuperação de energia pela reutilização do gás metano (SPEECE, 1996; CHERNICHARO, 1997; FORESTI et al., 1999), que é resultado da ação microbiológica. Tal ação é potencializada em temperaturas mais elevadas, o que torna a escolha desse sistema um fator favorável em nosso país (PIMENTA et al., 2005).

No entanto, uma desvantagem da adoção desse sistema em escala real pode ser o custo do material de preenchimento dos reatores, que pode ser tão custoso quanto o próprio sistema de tratamento (VAN HAANDEL; LETTINGA, 2008), uma deficiência na remoção de bactérias do grupo coliformes (CAVALCANTE, 2007), além da sensibilidade do sistema a mudanças ambientais, possível geração de odores (CHERNICHARO, 1997; FORESTI et al., 1999) e susceptibilidade a inibição das bactérias por um grande número de compostos (CHERNICHARO, 1997).

Como não ocorre o processo de nitrificação em processos anaeróbios, a utilização de unidades de pós-tratamento podem possibilitar a nitrificação, uma vez que os limites das diferentes formas de nitrogênio devem ser obedecidos (CHERNICHARO et al., 2007). Por isso, muitas vezes um sistema de um pós-tratamento se faz necessário, principalmente para adequar os padrões de lançamento do efluente tratado às normas estabelecidas pela CONAMA 430/11. Pensando nisso, os reatores anaeróbios podem ser compreendidos como

sendo constituintes de uma etapa do tratamento de efluentes, principalmente na remoção de matéria orgânica e sólidos em suspensão bem como de constituintes pouco afetados no tratamento anaeróbio, como os nutrientes (N e P) e os organismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) (CHERNICHARO, 2007). Dessa forma, é possível garantir que o efluente tenha uma melhor qualidade para a próxima etapa do processo de tratamento, caso necessário.

Em aspectos práticos, uma alternativa seria a combinação de um reator anaeróbio com um pós-tratamento aeróbio (SANCHES et al. 2000) na qual a maior redução da matéria orgânica ocorreria no processo anaeróbio e a porção remanescente seria removida aerobiamente. Vale ressaltar que a escolha desse processo deve ser avaliada caso a caso, considerando principalmente as relações N/DQO e P/DQO do efluente, e a remoção de matéria orgânica biodegradável no sistema anaeróbio. Segundo Sobrinho e Jordão (2001) dependendo do índice de remoção de matéria orgânica pode ocorrer a inviabilização da remoção de nutrientes no tratamento biológico complementar. Além disso, pode ocorrer um efeito inibitório nas bactérias nitrificantes pela presença de sulfetos.

3.4.2 Sistema de pós-tratamento anaeróbio em filtros de areia

Esse sistema é considerado simples, de fácil operação e custo reduzido, podendo ser considerado viável para pequenas comunidades ou populações isoladas (PELL; NYBERG, 1989).

Os filtros de areia podem ser utilizados como pós-tratamento de reatores anaeróbios a partir da aplicação de altas taxas hidráulicas. O pós-tratamento em filtros de areia é regido pela NBR 13969 (1997), que recomenda seu uso combinado com filtros anaeróbios ou aeróbios, valas de filtração ou infiltração, lodo ativado, sumidouro e desinfecção a uma taxa de $100 \text{ L.m}^{-2}\text{dia}^{-1}$ como limite para a aplicação. No entanto, o valor taxa de aplicação pode

variar, podendo ser mais eficiente em taxas mais altas de aplicação (TONETTI, 2004, 2005; TONON, 2011).

Seu funcionamento baseia-se na aplicação intermitente de efluente anaeróbio sobre a superfície de um leito de areia (MÉNORET et al., 2002), em que a areia atua como um meio físico filtrante onde as partículas maiores são retidas pelo leito, acarretando na remoção de sólidos em suspensão (PROCHASKA; ZOUBOULIS, 2003). Assim, os compostos são removidos por processos físicos, químicos e biológicos sendo que, nos primeiros 20 cm da camada superior, existe o biofilme onde ocorre a biodegradação. Se for bem dimensionado o filtro pode reduzir cerca de 90 % da DBO e 80 % da DQO (SABBAH et al., 2003). Além disso, ainda, é possível que ocorra a nitrificação (STEVIK; AUSLAND; HANSSSEN, 2004), pois a purificação decorre principalmente da oxidação bioquímica resultante do processo metabólico das bactérias nitrificantes em contato com o efluente.

O processo de nitrificação ocorre quando o íon amônio é convertido em nitrito e este em nitrato pela ação das bactérias *Nitrossomonas* e *Nitrobacter*. As primeiras são responsáveis pela conversão dos íons amônio ao íon nitrito, que por sua vez é convertido em íons nitrato pelas *Nitrobacter*.

Segundo Gerardi (2002) para que a nitrificação seja considerada completa, a concentração de íons amônio e nitrito devem ser menores do que 1mgL^{-1} e a de nitrato a maior possível. Quando há acúmulo do íon nitrito, evidencia-se que o reator não está operando nas condições mais adequadas para ocorrer o processo de nitrificação.

Os principais fatores físico-químicos que influenciam neste processo são: a temperatura, o pH, e a concentração de oxigênio dissolvido. A temperatura é capaz de influenciar diretamente o metabolismo das bactérias responsáveis pela degradação dos compostos, em especial das bactérias nitrificantes, sendo considerada ideal na faixa de $28^{\circ}\text{C} \pm 2$. Vale ressaltar que o crescimento das bactérias é diretamente proporcional à temperatura, isto é, se a temperatura aumentar, seu crescimento será maior, o que, conseqüentemente, aumentará a taxa de nitrificação. Desta maneira, quando a temperatura é reduzida, pode

ocorrer uma queda na produção de nitrato e conseqüente acúmulo do íon nitrito, evidenciando uma ineficiência do reator (METCALF & EDDY Inc., 2005). Uma variação do pH e do OD podem interferir na nitrificação (METCALF & EDDY Inc., 2005), sendo adequados a manutenção do pH entre 6,5 e 8,0 (USEPA, 1993; METCALF & EDDY Inc., 2005) e do OD na faixa de 2 a 3 mg L⁻¹ (GERARDI, 2002).

A escolha de um sistema de desinfecção deve considerar as características físico-químicas do esgoto, concentração de organismos patogênicos, efetividade do desinfetante, volume a ser tratado, nível de tratamento anterior à desinfecção, formação de subprodutos indesejáveis, segurança ocupacional, persistência de residual, entre outros (VON SPERLING, 2005).

Vale ressaltar que a função de desinfecção é a de inativar espécies de organismos presentes no esgoto que possam causar prejuízos à saúde humana (GONÇALVES, 2003) pelo seu contato direto ou indireto, e não tem como objetivo a esterilização, ou seja, a eliminação total de microrganismos como ocorre na medicina e na indústria de alimentos (VON SPERLING, 2005).

3.5 Regulamentações para o reúso de água

Os problemas relacionados à escassez da água, a degradação dos corpos hídricos e do solo, e as questões de saúde pública confirmam a necessidade de uma maior atenção na sua utilização (COSTA; BARROS JÚNIOR, 2005; BAKOPOULOU et al., 2010). Ao se definir “água”, esbarra-se em conceitos naturais físicos, estudados pela geografia (CRETELLA Jr., 1990) e por outros conceitos biológicos e químicos, e, ainda jurídicos, que interessam ao direito, quando ocorre a incidência normativa. Assim, no mundo do direito, as águas, quando bens, são valoradas pelo direito, incluindo-se no patrimônio privados ou público (CRETELLA Jr., 1990).

No Brasil, a água foi inicialmente considerada como um bem inesgotável, passível de utilização abundante e farta, no Decreto Federal nº. 24.643 de 10 de julho de 1934, que instituiu o Código de Águas.

O Decreto, por considerar que o uso das águas no Brasil regia-se por uma legislação obsoleta, em desacordo com as necessidades e interesse da coletividade nacional, modifica esse estado de coisas, dotando o país de uma legislação adequada que permitiu ao poder público controlar e incentivar o aproveitamento industrial das águas. Particularmente, enfatiza medidas que facilitam e garantam o aproveitamento da água para energia hidráulica.

Declara que são domínio da União os bens que à época lhe pertencem, tais como os lagos e quaisquer correntes em terrenos do seu domínio, ou que banhem mais de um Estado, sirvam de limites com outros países ou se estendam a território estrangeiro. Além disso, enfatiza que o aproveitamento das águas e da energia hidráulica, ainda que de propriedade privada, depende de autorização ou concessão federal, na forma da lei (POMPEU, 2003).

Até a instituição da Constituição Federal em 1988 não havia o conceito de que os recursos hídricos são finitos e, portanto, devem ser preservados e ter o seu uso regido (FINK; SANTOS, 2003). Desse novo pensamento forma-se um delineamento legal no tocante das águas. A Constituição de 1988 assegura, por exemplo, nos termos da lei, aos Estados, ao Distrito Federal, aos Municípios e a Órgãos da Administração Direta da União, a participação no resultado da exploração de recursos hídricos para a produção de energia elétrica, no respectivo território, na plataforma continental, no mar territorial ou na zona econômica exclusiva, ou a compensação financeira por essa exploração (POMPEU, 2003).

Além disso, as águas existentes em território brasileiro são consideradas pela Constituição como bem público da União ou dos Estados. Dessa forma, cabe à União administrar os recursos hídricos e fixar, por meio do Poder Executivo Federal, os critérios de outorga de direitos do respectivo uso (CRETILLA Jr. 1990; FINK; SANTOS, 2003).

Posteriormente, a Política Nacional dos Recursos Hídricos (Lei Federal nº. 9433/97), fundamenta a água como um bem de domínio público, limitado, dotado de valor econômico. Disciplina seu uso, e objetiva assegurar à atual e às futuras gerações a necessária disponibilidade de água, em padrões de qualidade adequados aos respectivos usos. Vale ressaltar que, de acordo com Pompeu (2003), em muitas ocasiões, o elemento líquido deve ser referido como água e não como recurso hídrico. Por exemplo, o que se deve proteger e preservar para as atuais e futuras gerações é a água, como um todo, e não apenas na condição de recurso. O termo recurso é a consideração da água como bem econômico passível de utilização com tal fim (REBOUÇAS, 2006).

A Política Nacional de Recursos Hídricos cria, em seu artigo 32, o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos com os objetivos de coordenar a gestão integrada das águas, implementar a Política Nacional de Recursos Hídricos, planejar, regular e controlar o uso, a preservação e a recuperação dos recursos hídricos, entre outras coisas. Dessa forma, fica estabelecido como unidade de gestão a Bacia Hidrográfica, e por meio do referido Sistema de Gerenciamento organiza-se um plano de gestão dos recursos hídricos que abrange as esferas Federais, Estaduais e Municipais. No entanto, apesar da evolução de pensamentos, incentivando o uso racional da água, essa lei ainda não conta com uma regulamentação específica para o caso do reúso.

Primeiramente, para compreender o funcionamento de permissão da prática, entende-se que se possa ceder o direito de uso a terceiros, para o reúso. Sendo o reúso de água o aproveitamento de águas já utilizadas, a cessão dos direitos de uso, quando realizadas de seu titular à terceiros, será direta, uma vez que não há etapa intermediária entre os usos consistentes no lançamento em corpos de água ou no solo, não havendo portanto uma necessidade de nova outorga pelo poder público (FINK; SANTOS, 2003).

Para o reúso, devido a ausência de uma legislação específica, adotam-se procedimentos pautados em regulamentações normativas. Especificamente ao caso agrícola, ocorre o mesmo.

O Projeto de Lei nº 5296 de 2005, que instituiu a Política Nacional de Saneamento Básico, incentiva o reúso de água em seu Artigo 10, Inciso III, além da reciclagem dos demais constituintes do esgoto. Apesar de algumas leis que relacionam e incentivam o reúso da água, não há nada específico para o caso do reúso agrícola. Considerando a demanda de água no setor agrícola, os governos estaduais e federais deveriam iniciar, imediatamente, processos de gestão para estabelecer bases políticas, legais e institucionais para o reúso, tanto em relação aos aspectos associados diretamente ao uso de efluentes, como aos planos estaduais ou nacionais de recursos hídricos (HESPANHOL, 2003; FLORENCIO; BASTOS; AISSE, 2006). O referido autor ainda complementa que para assegurar a sustentabilidade, deve ser dada atenção adequada aos aspectos organizacionais, institucionais e sócio-culturais do reúso.

No município de Campinas, por exemplo, instituiu-se em 2006 a lei n. 12474 que cria o programa municipal de conservação, uso racional e reutilização de água em edificações e dá outras providências. A lei apenas cita, em seu artigo 4º, o desenvolvimento de ações para:

III - Aproveitamento de água de chuva, que deverá ser entendido como o conjunto de ações que possibilitem a captação, preservação, tratamento, monitoramento da qualidade e distribuição para o uso em aplicações/atividades menos nobres: irrigação, lavagem de pisos, etc. Neste caso os sistemas de preservação e distribuição deverão ser totalmente separados, de modo a impedir a mistura com água da rede pública, conforme legislações vigentes.

No entanto, apesar de sua existência desde 2006, não há recomendações técnicas para a realização da citada irrigação. Fala-se apenas em utilização de água da chuva, não citando outras formas também passíveis de serem reutilizadas, como o esgoto doméstico. Nota-se a falta um detalhamento técnico mesmo em municípios que consideram e estimulam, de alguma forma, a reutilização da água.

Dessa forma, os procedimentos adotados pautam-se em regulamentações normativas nacionais e internacionais, como a USEPA, WHO e PROSAB (Tabelas 3.1, 3.2 e 3.3).

Tabela 3.1- Diretrizes da USEPA para o uso agrícola de esgotos sanitários

Tipo de irrigação e cultura	Processo de tratamento	Qualidade de Efluente
Culturas alimentícias não processadas comercialmente ⁽¹⁾ ; Irrigação superficial ou por aspersão de qualquer cultura, incluindo culturas a serem consumidas cruas.	Secundário + filtração+ desinfecção ^{(2), (3)}	pH 6 a 9 DBO $\leq 10\text{mgL}^{-1}$ Turbidez $\leq 2 \text{ uT}$ ⁽⁴⁾ CRT $\geq 1 \text{ mg L}^{-1}$ CTer ND ⁽⁷⁾ Organisms patogênicos ND
Culturas alimentícias processadas comercialmente ⁽¹⁾ ; Irrigação superficial de pomares e vinhedos; Silvicultura e Irrigação de áreas com acesso restrito ao público.	Secundário + desinfecção ⁽²⁾	pH 6 a 9 DBO $\leq 30\text{mgL}^{-1}$ SSR $\leq 30\text{mgL}^{-1}$ ⁽⁸⁾ CRT $\geq 1 \text{ mg L}^{-1}$ ⁽⁵⁾ CTer 200 100mL ⁻¹ ⁽⁷⁾
Culturas não alimentícias; Pastagens para rebanhos de leite ⁽¹⁰⁾ Forrageiras, cereias, fibras e grãos.	Secundário + desinfecção ⁽²⁾	pH 6 a 9 DBO $\leq 30\text{mgL}^{-1}$ SSR $\leq 30\text{mgL}^{-1}$ ⁽⁸⁾ CRT $\geq 1 \text{ mg L}^{-1}$ ⁽⁵⁾ CTer 200 100 mL ⁻¹ ⁽⁹⁾

Fonte USEPA, 2004: Adaptado.

Notas: DBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio; Nd: não detectável; CTer: coliformes termotolerantes; CRT: cloro residual total. ⁽¹⁾ Culturas que recebem processamento físico ou químico, prévio à comercialização, suficiente para a destruição de patógenos. ⁽²⁾ Capaz de produzir efluente com DBO e SST $\leq 30\text{mgL}^{-1}$ ⁽³⁾ A coagulação química pré-filtração pode ser necessária para o atendimento da qualidade do efluente recomendada. ⁽⁴⁾ Turbidez pré-desinfecção, média diária; nenhuma amostra $> 5\text{uT}$ (ou 5mg SST L^{-1}). ⁽⁵⁾ Cloro Residual Total após tempo de contato mínimo de trinta minutos. ⁽⁶⁾ Residuais ou tempo de contato mais elevado podem ser necessários para a garantia de inativação de vírus e parasitas. ⁽⁷⁾ Média móvel de sete dia; nenhuma amostra $> 14 \text{ CTer } 100\text{ml}^{-1}$. ⁽⁸⁾ Um padrão mais exigente pode ser necessário no caso de irrigação por aspersão. ⁽⁹⁾ Média móvel de sete dias; nenhuma amostra $> 800\text{CTer } 100\text{mL}^{-1}$; lagoas de estabilização podem alcançar o critério de qualidade sem a necessidade de desinfecção. ⁽¹⁰⁾ O consumo de culturas irrigadas não deve ser permitido antes de 15 dias após a irrigação; desinfecção mais rigorosa ($\leq 14 \text{ CTer } 100\text{ml}^{-1}$) se o período de 15 dia não for observado.

Em 1990, a WHO estabeleceu algumas diretrizes sanitárias para o uso de efluentes urbanos na irrigação, objetivando com isso alcançar resultados positivos propiciando o uso sustentável do recurso hídrico. Essas diretrizes objetivam ainda minimizar a poluição hídrica nos mananciais; estimular o uso racional de águas de boa qualidade; evitar a erosão do solo e

controlar processos de desertificação por meio da irrigação e fertilização de cinturões verdes; possibilitar a economia de dispêndios com fertilizantes e matéria orgânica; aumentar a produtividade agrícola; e maximizar a utilização múltipla da água aduzida (WHO, 1990). A primeira contribuição da WHO deu-se em 1973 com a publicação das primeiras recomendações sobre o uso de águas residuárias (WHO, 1973; WHO 2006). Anteriormente, pode-se citar a emissão da primeira regulamentação oficial sobre o uso de efluente sanitário na agricultura, nos Estados Unidos (CROOK; OKUN, 1991).

Tabela 3.2 Diretrizes da WHO para o uso agrícola de esgotos sanitários (1986-2005)

Catego- ria	Tipo de Irrigação e Cultura	Helmintos (ovos L⁻¹)⁽¹⁾	Coliformes termo- tolerantes (org 100 mL⁻¹)⁽²⁾	Processo de tratamento
A	Culturas consumidas cruas.	≤ 1	≤1000	Lagoas de estabilização em série, ou tratamenrto equivalente em termos de remoção de patógenos
B	Culturas processa-das industrial-mente. Cereais, forragens, pasta-gens, árvores ⁽³⁾ .	≤ 1	SR ⁽⁴⁾	Lagoas de estabilização com 8 -10 dias de tempo de detenção ou remoção equivalente de helmintos e coliformes toletrantes
C	Irrigação localizada de plantas da categoria B na ausência de riscos para agricultores e população.	NA ⁽⁴⁾	NA ⁽⁴⁾	Pré tratamento de acordo com o métodos de irrigação, com no mínimo sedimentação primária

Fonte: WHO, 1989 (Adaptado).

Notas: ⁽¹⁾Nematóides intestinais humanos: *Ascaris*, *Tricuris*, *Necator* e *Ancylostoma*; média aritmética durante o período de irrigação. ⁽²⁾ Média geométrica durante o período de irrigação. ⁽³⁾ No caso de árvores frutíferas, a irrigação deve terminar duas semanas antes da colheita e nenhum fruto deve ser apanhado do chão; irrigação por aspersão não deve ser empregada. ⁽⁴⁾ SR: sem recomendação; ⁽⁵⁾ NA: não de aplica.

No Brasil, o Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CNRH), instituiu em 2005 a Resolução nº 54 que estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para a prática de reúso direito não potável de água, e dá outras providências. Tal resolução considerou o reúso como prática de racionalização e conservação de recursos hídricos, conforme princípios

estabelecidos na Agenda 21. Além disso, em acordo com o Conselho Econômico Social da Organização das Nações Unidas (ONU), considera que nenhuma água de boa qualidade deverá ser utilizada em atividades que tolerem águas de qualidade inferior. Entre outras coisas, considera ainda que a prática do reúso de água reduz os custos associados à poluição e contribui para a proteção do meio ambiente e da saúde pública.

Em seu artigo 3º define as modalidades a que o reúso direto não potável de água é abrangido, e dentre os incisos cita aplicação de água de reúso para produção agrícola e cultivo de florestas plantadas.

A Resolução estimula dessa forma a prática do reúso, mas ainda não define diretrizes que estruturam essa prática. Apenas estabelece que as diretrizes, critérios e parâmetros específicos para as modalidades de reúso, definidas nos incisos, serão estabelecidos pelos órgãos competentes.

A Resolução do CONAMA 430/11, publicada em março de 2011, dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357/05 do mesmo órgão. Estabelece, entre outras coisas, os padrões de lançamento para águas de classe 2, destinadas à irrigação de hortaliças e plantas frutíferas. Resolve que os valores de coliformes fecais e totais sejam iguais ou menores a 1000 CF/ 100 mL e 5000 CT /100 mL respectivamente. Além disso, recomenda que testes de toxicidade sejam realizados a critério do órgão ambiental, que deverá também ser responsável por determinar quais empreendimentos e atividades deverão realizar os referidos ensaios, considerando as características dos efluentes gerados e do corpo receptor. Essa recomendação já se faz presente em diversos países europeus e norte americanos (RODRIGUES; UMBUZEIRO, 2011).

Em São Paulo, a CETESB publicou um documento que orienta a prática do reúso de água de uma estação de tratamento de esgoto doméstico na aplicação em culturas, disciplinando-o. Esses critérios consideram informações sobre os efluentes, área, sistema e taxa de aplicação, objetivando proteger o ambiente e a saúde pública.

Detalha os critérios da escolha da área, que não deve estar em Área de Proteção Permanente (APP), até um conteúdo mínimo que deva estar presente na elaboração do plano de aplicação do efluente das estações de tratamento de esgoto doméstico. De acordo com Bertocini (2008), o documento estabelece concentrações máximas permitidas para várias substâncias, dentre elas, boro, cloreto e sódio (0,5; 106,5 e 69 mg/L de efluente, respectivamente), que são tóxicas a plantas sensíveis, como as frutíferas. Quanto aos parâmetros microbiológicos, estabelece os valores permitidos de coliformes fecais termotolerantes e ovos de helmintos, utilizados pela WHO (2006), que recomenda densidades de 103 a 106 de *Escherichia coli* em 100 mL de efluente, e iguais ou inferiores a um ovo de helminto por litro de efluente, dependendo do tipo de cultura a ser irrigada.

Em 2010, o CNRH estabelece uma nova Resolução, de nº 121, que considera a Resolução nº54, e fixam diretrizes e critérios para a prática de reúso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal, definida na Resolução CNRH nº 54, de 28 de novembro de 2005. Estabelece em seu artigo 2º e 3º que as características físicas, químicas e biológicas, assim como a caracterização e o monitoramento periódico da água de reúso, em todos os tipos de reúso para fins agrícolas e florestais, deverão atender os limites definidos na legislação pertinente. O artigo 3º ainda recomenda a observação da natureza da água de reúso; tipologia do processo de tratamento; porte das instalações e vazão tratada; variabilidade dos insumos; variações nos fluxos envolvidos; e tipo de cultura.

O PROSAB sugere alguns critérios de qualidade para a utilização de esgoto sanitário para uso agrícola, pautado em critérios de proteção a saúde (qualidade microbiológica), a saber:

Tabela 3.3 Diretrizes do PROSAB para uso agrícola de esgotos sanitários

Categoria	CTer 100mL⁻¹(⁵)	Ovos de helmintos L⁻¹(⁶)	Observações
Irrigação irrestrita (³)	< 1x 10 ³	<1	<1 x10 ⁴ CTer 100mL ⁻¹ no caso de irrigação por gotejamento de culturas que se desenvolvem distantes do nível do solo ou técnicas hidropônicas em que o contato com a parte comestível da planta seja minimizado
Irrigação restrita (⁴)	< 1x 10 ⁵	<1	<1 x10 ⁵ CTer 100mL ⁻¹ no caso da existência de barreiras adicionais de proteção ao trabalhador (⁷). Associação de irrigação subsuperficial(⁸).

Fonte: PROSAB, 2006 (Adaptado).

Notas: Para uso agrícola do esgoto tratado não há restrição de DBO, DQO e SST, sendo as concentrações nos efluentes uma consequência das técnicas de tratamento compatíveis com a qualidade microbiológica estipulada. Todavia, efluentes com concentrações elevadas desses parâmetros podem favorecer a formação de biofilmes e o entupimento de sistemas de irrigação. O padrão de qualidade de efluentes expresso apenas em termos de coliformes termotolerantes (CTer) e ovos de helmintos aplicam-se ao emprego de sistemas de tratamento por lagoas. Nesses sistemas a remoção de oocistos de protozoárias é indicada pela remoção de ovos de helmintos. No caso de filtração terciária a turbidez deve ser utilizada como parâmetro indicador da remoção de protozoários. Para a irrigação irrestrita recomenda-se um padrão de turbidez ≤ 5 uT. Além disso, em sistemas que incluam adesinfecção deve-se recorrer aos parâmetros de controle da desinfecção (residual desinfetante e tempo de contato necessários ao alcance do padrão estipulado para coliformes termotolerantes.⁽³⁾ Irrigação superficial ou por aspersão de qualquer cultura, inclusive culturas alimentícias consumidas cruas. Inclui também a hidroponia.⁽⁴⁾ Irrigação superficial ou por aspersão de qualquer cultura ingerida crua, inclui culturas alimentícias e não alimentícias, forrageiras, pastagens e árvores e hidroponia ⁽⁵⁾ Coliformes termotolerantes (CTer); média geométrica durante o período de irrigação, alternativa e preferencialmente pode-se determinar *E. coli*.⁽⁶⁾ Nematóides intestinais humanos; média aritmética durante o período de irrigação.⁽⁷⁾ Barreiras adicionais de proteção encontradas em agricultura de elevado nível tecnológico, incluindo o emprego de irrigação localizada e equipamentos de proteção individual. Exclui-se dessa nota a irrigação de pastagens e forrageiras destinadas à alimentação animal.⁽⁸⁾ Neste caso não se aplicam os limites estipulados de coliformes e ovos de helmintos, sendo a qualidade do efluente consequência das técnicas de tratamento empregadas.

É de extrema importância que se atribua prioridade para institucionalizar, promover e regulamentar o reúso para fins agrícolas em âmbito nacional (HESPANHOL, 2003) principalmente frente à ausência de uma legislação específica. Cabe ao responsável pela prática do reúso pautar-se em normas que o auxiliem para garantir dessa forma que não ocorram prejuízos para a cultura irrigada e nem danos ao ambiente e a saúde pública. Recomenda-se então, que a execução siga um planejamento que considere todos os aspectos

envolvidos da irrigação; desde a escolha água, avaliando padrões sanitários e agrícolas, de acordo com a cultura escolhida, até a avaliação da toxicidade do efluente, para que não ocorram danos sanitários e ambientais.

Segundo Bond (1998), as questões mais limitantes na irrigação com efluente são a lixiviação de nitratos em excesso, um manejo deficiente dos sais do solo e os efeitos do aumento da sodicidade no solo, nos seus usos atuais ou futuros. Efluente doméstico tratado utilizado para irrigação normalmente leva ao solo uma concentração de nitrogênio maior que a necessidade da cultura irrigada, assim como, com excessão a algumas gramíneas perenes (FEIGIN; RAVINA; SHALHEVET, 1991; CRITES; REED; BASTIAN, 2000). Além desses nutrientes, o uso de efluente na irrigação pode contribuir com uma contaminação por metais pesados, patógenos, fármacos e disruptores endócrinos (TOZE, 2005).

Ayers e Westcot (1991) resumem os problemas causados pela qualidade da água nos seguintes efeitos principais: salinidade, permeabilidade do solo e toxidez às plantas cultivadas. Efeitos os quais podem comprometer a qualidade do solo bem como a produtividade da cultura. Essa avaliação é fundamental para se determinar a produtividade da cultura, pois relaciona a qualidade e quantidade de água a ser disposta, a salinidade do solo e a tolerância a esses sais pela vegetação a ser irrigada, clima, drenagem, além de permite a escolha adequada do método de irrigação (RICHARDS, 1954; PAGANINI, 2003).

Dessa maneira, o planejamento adequado permite sem dúvidas, que a prática do reúso seja realizada de modo não prejudicial ao meio ambiente nem à saúde pública. Para isso, o planejamento deve seguir as recomendações de caráter normativas, bem como a legislação pertinente, além de regrar-se dentro de um sistema que avalie parâmetros físico-químicos do efluente a ser utilizado. Isso significa que é necessário um monitoramento contínuo durante a prática do reúso. No entanto, todo esse cuidado pode se tornar falho, se não houver uma preocupação quanto a sua toxicidade em relação a um organismo-teste adequado.

3.6 Ecotoxicologia

Indubitavelmente, os primeiros impactos ambientais negativos percebidos pelo homem foram os responsáveis por estimular os estudos de avaliação ambiental. A publicação do livro *Primavera Silenciosa*, pela norte-americana Rachel Carson (1962), que relacionou o uso indiscriminado do inseticida DDT com a diminuição da população de algumas aves e outros animais, foi de grande importância para a toxicologia. A descrição minuciosa de diversos problemas ambientais ocorridos nos Estados Unidos durante o uso do DDT, fez com que a comunidade científica se voltasse a estudos ambientais num sentido de criar estruturas e padrões que permitissem uma avaliação ambiental coesa de monitoramento e previsão de risco.

Nas décadas de 1950 e 60, foram estabelecidos critérios e padrões que permitiam a disposição de agentes tóxicos, paralelamente identificados em outros estudos, em quantidade adequada à manutenção da qualidade dos recursos hídricos (ZAGATTO, 2006). No entanto, tais critérios foram primeiramente estabelecidos baseados em padrões de potabilidade, sendo referidos como padrões de proteção a vida aquática apenas em 1967 pela WHO (ZAGATTO, 2006).

No Brasil, somente em 1976 foram estabelecidos padrões numéricos de substâncias visando assegurar a qualidade das águas interiores no Decreto Estadual nº 8468 de 1976, que regulamentou a Lei Estadual nº997 de 1976, que dispõe sobre a Prevenção e o Controle da Poluição do Meio Ambiente. No entanto, segundo ressaltado por Bertoletti, Gherard-Goldstein e Nipper (1989), tais padrões não contemplaram os necessários para preservação da vida aquática, por considerarem critérios norte-americanos de potabilidade da água.

A respeito do reúso de água, Shuvall (1977) destaca a importância da realização de testes toxicológicos para avaliação de longo prazo de efeitos sobre propriedades carcinogênicas, mutagênicas e teratogênicas dos esgotos tratados que se desejem recuperar. Nota-se novamente que apesar do pensamento avançado quanto à preocupação dos riscos

reais quanto a potabilidade, há ainda uma ausência quanto à preocupação com a biota aquática.

Nesse contexto, devido a importância da toxicologia aquática para a saúde humana, a Ecotoxicologia desenvolveu-se. O conhecimento adquirido sobre as interações entre os agentes tóxicos presentes contribuiu para a formulação de parâmetros ecotoxicológicos relacionados a efeitos crônicos, biodegradação e bioacumulação e toxicidade das substâncias químicas (ZAGATTO, 2006).

Tal desenvolvimento teve grande avanço na década de 1980 com os programas de calibração de dados intra e interlaboratoriais, nos quais ocorreu a filiação de diversos países, inclusive do Brasil, como membros da *International Organization for Standardization* (ISO) em 1975 (ZAGATTO, 2006).

O conceito de Ecotoxicologia, como uma ciência que integra a Ecologia e a Toxicologia, por considerar aspectos comuns entre ambas as áreas foi oficialmente difundido em 1969, durante o *Comitee of the International Council of Scientific Unions* (ICUS), em Estocolmo, pelo toxicologista René Truhaut (ZAGATTO, 2006).

A ecologia pode ser compreendida como a ciência que estuda as interações entre organismos e seu ambiente em todos os níveis, a partir do organismo individual até o ecossistema. Isto inclui fatores que regem a distribuição geográfica das espécies, a abundância e outras características das populações individuais (CHAPMAN, 2002). Seu estudo foi iniciado com observações simples (história natural e descrição), que foram, então, complementadas por investigações planejadas, e mais tarde por manipulações experimentais (CHAPMAN, 2002). A Toxicologia enfatiza os efeitos ao homem abrangendo um contexto farmacológico (CAIRNS JUNIOR; NIEDERLEHNER, 1995).

A Ecotoxicologia foi então primeiramente definida como a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera,

incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado (TRUHAUT, 1977; OKAMURA, et al., 1999).

Sua importância deve-se principalmente por essa junção de conceitos que permite que o estudo seja mais completo, considere mais parâmetros e assim diminua o risco de uma conclusão errônea. Seu objetivo compreende e prevê efeitos de produtos químicos em comunidades naturais em condições de exposição realista (CHAPMAN, 2002). Para isso, conhecimentos de diversas áreas são somados.

Os bioensaios proporcionam uma mensuração ambiental mais direta e relevante dos ambientes contaminados que análises químicas, pois os organismos vivos são capazes de assimilar tanto efeitos positivos como negativos durante o seu desenvolvimento e assim podem responder aos compostos biologicamente ativos no ambiente (OKAMURA et al., 1999).

Weyer e Ellis (1994) consideraram três principais aspectos positivos para se utilizar organismos vivos para detectar a qualidade ambiental, tais como: uma resposta adequada dos organismos vivos as mudanças da qualidade ambiental, diferentes respostas a diferentes compostos e por fim, respostas dependentes da dose, concentração e complexidade.

Assim, a toxicidade pode ser compreendida como uma capacidade intrínseca de uma substância causar um efeito adverso em um organismo vivo, sendo que qualquer efeito pode ser considerado tóxico, seja ele letal ou subletal (SPRAGUE; MCLEAY, 1992; WEYER; ELLIS, 1994).

Para a realização de testes ecotoxicológicos há duas questões-chave específicas que devem ser consideradas: respostas agudas e crônicas, e os critérios para as escolhas das espécies (CHAPMAN, 2002), que devem ser representativos da coluna d'água ou do sedimento de ambientes de água doce, estuarina ou marinho (ARAGÃO; ARAÚJO, 2006).

Anteriormente, vale ressaltar que atualmente, associações nacionais e internacionais, tais como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), *Association Française de Normalisation* (AFNOR), *American Society for Testing and Materials* (ASTM), *American Water Work Association* (AWWA), *Deutsches Institut für Normung* (DIN), *International Standardization Organization* (ISO) e *Organization for Economic Co-Operation and Development* (OECD), são responsáveis por estabelecer normas e padrões de vários testes de toxicidade (ARAGÃO; ARAÚJO, 2006), o que contribui muito para a universalização desses testes. Além da validação dos testes, Rand e Petrocelli (1985) mencionam a importância dos mesmos apresentarem uma boa repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados, e serem taxonomicamente representativos do ecossistema aquático (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

Os ensaios de toxicidade podem então ser classificados em agudos ou crônicos, dependendo do tempo de exposição do organismo na amostra-teste. Segundo Birge, Black e Westerman (1985) ensaios de toxicidade aguda avaliam efeitos severos e rápidos, em um curto período de tempo, geralmente de um a quatro dias. Avalia-se nesses testes a mortalidade ou a imobilidade do organismo-teste (VAN LEEUWEN, 1988). No presente estudo serão avaliados os efeitos de imobilidade em *Daphnia similis*, pois em invertebrados este é o critério mais significativo biológica e ecologicamente (VAN LEEUWEN, 1988).

Já os ensaios de toxicidade crônica avaliam os distúrbios fisiológicos e/ou comportamentais causados ao longo do tempo devido a presença de contaminantes em doses subletais, que ocorrem devido a fatores de diluição no ambiente aquático (ARAGÃO, ARAÚJO, 2006).

Quanto a escolha da espécie para a utilização é preciso dar atenção a alguns aspectos como a sensibilidade do organismo a uma diversidade de agentes químicos, disponibilidade do organismo, ampla distribuição geográfica e estabilidade genética (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006). Além disso, tornou-se senso comum que a ecotoxicologia moderna deva combinar diferentes níveis de organização biológica, análises químicas, limnoquímica

convencional (TRIEBSKORN et al., 2001), com um conjunto de variáveis fisiológicas (HODSON, 2002), para tornar os resultados mais coesos.

Seguindo esses critérios, uma sensibilidade adequada do organismo é fundamental para garantir uma boa repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados. Para isso, é necessário que se conheça a biologia da espécie tanto para o cultivo quanto para a realização dos testes (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

A disponibilidade do organismo ao longo do ano, bem como sua abundância devem também ser levadas em consideração. Domingues e Bertolotti (2006) ressaltam a importância de se optar por espécies autóctones ou representativas do ecossistema em estudo, já que os testes visam avaliar o efeito de determinada substância no ambiente.

Finalmente, espécies com estabilidade genética devem ser priorizadas na escolha, pois elas garantem uma uniformidade no lote (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006), e dessa forma permitem uma resposta final com menor risco de flutuabilidade devido a uma extensa variabilidade genética.

Assim, quando a espécie apresenta condições, ou possibilidade de manutenção, ou existem técnicas disponíveis de cultivo em laboratório, seu uso se torna altamente recomendado (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006). Tais condições são relevantes e de extrema importância para que organizações nacionais e internacionais consigam sumarizar esses critérios, por meio de normatizações, principalmente para se criar um padrão para a realização dos testes e tornar seus resultados compreendidos de forma global.

Para garantir uma consistência no resultado final de um estudo de ecotoxicologia, é importante que se leve em consideração que organismos de diferentes níveis tróficos podem responder diferentemente a uma mesma amostra. Dessa forma, a condução do teste com representantes de diferentes níveis tróficos torna a compreensão dos efeitos tóxicos mais completa. Ademais, a toxicidade de um organismo cultivado em laboratório não pode ser extrapolada com confiança em níveis mais complexos de organização biológica (CAIRNS

JUNIOR; PRATT, 1993). Por isso, recomenda-se sempre que se utilize mais de um organismo, preferencialmente de diferentes níveis tróficos, para garantir uma maior credibilidade no resultado (RAND, 1985; DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006)

Principalmente em se tratando de cultivo do organismo no laboratório, os cuidados devem atender minuciosamente às necessidades do organismo quanto a qualidade do ambiente de cultivo, alimentação, controle da temperatura, umidade relativa do ar, luminosidade e isolamento de possíveis interferentes do meio externo (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006).

Seguindo as recomendações normativas pertinentes, bem como as considerações apresentadas, para o presente estudo, os ensaios ecotoxicológicos foram realizados com a bactéria *V. fischeri* e com o crustáceo *D. similis*. Mesmo quando se objetiva estudar a aplicação de efluente tratado na agricultura a avaliação da toxicidade em organismos aquáticos se faz necessária, uma vez que podem ocorrer a lixiviação de contaminantes pelo solo até um lençol freático (OKAMURA et al, 1999). Por fim, foi realizado um ensaio com sementes de *A. cepa* para verificação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico em um representante vegetal.

3.6.1 Teste de Toxicidade Aguda em *V. fischeri*

Dentre os diversos ensaios ecotoxicológicos desenvolvidos a partir dos anos 70, Bullich (1979) desenvolveu um método para a avaliação da toxicidade de efluentes utilizando a bactéria luminescente *V. fischeri*. Essa bactéria é encontrada nos oceanos, em vida livre ou associada a outros organismos marinhos, como a lula *Euprymna scolopes*.

O bioensaio é baseado na verificação das variações na emissão de luz por unidade de tempo, em uma cultura de bactérias, utilizando um aparelho denominado luminômetro ou fotômetro.

Nessas bactérias, a emissão de luz é um resultado da interação da enzima luciferase com o nucleotídeo flavina, na presença de oxigênio. A enzima luciferase utiliza a flavina, um aldeído de cadeia longa em sua forma reduzida, e oxigênio para a produção de luz. A energia metabólica gerada nessa reação é então convertida em energia química, e por meio do sistema de transporte de elétrons, em luz visível. Essa via metabólica está diretamente relacionada a respiração celular do organismo, já que a emissão de luz é o resultado do processo metabólico celular (BULLICH, 1979). Por isso, qualquer disfunção no metabolismo celular é capaz de inibir a produção de energia e causar assim uma alteração na produtividade de luz (HERNANDO, 2003; UMBUZEIRO; RODRIGUES, 2004).

Esse bioensaio tem sido muito utilizado para verificação da toxicidade aguda em um grande número de químicos (HERNANDO et al, 2007). De acordo com Umbuzeiro e Rodrigues (2004) várias são as substâncias capazes de provocar inibição na produção de luminescência, tais como: antibióticos (BACKHAUS; GRIMME, 1999; CHRISTENSEN; INGERSLEV; BAUN, 2006; HERNANDO et al., 2003), metais pesados (MADONI et al, 1996; GAUBIN et al, 2000; FULLAROSA et al, 2005) fenol, benzeno e seus derivados (HERNANDO et al., 2003), agrotóxicos (HERNANDO et al, 1997; 2007; AMORÓS et al., 2000; PALMA et al, 2008), entre outras como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, e compostos clorados (UMBUZEIRO; RODRIGUES, 2004).

O teste é também uma ferramenta poderosa de triagem quando se tem um número muito grande de amostras e uma necessidade de resposta em curto espaço de tempo (UMBUZEIRO; RODRIGUES, 2004; RODRIGUES; UMBUZEIRO, 2011).

Além da sensibilidade adequada do organismo, o teste é bem aceito por ser relativamente rápido, apresentar custo viável, boa reprodutibilidade (RUIZ et al., 1997; LIU et al, 2001; UMBUZEIRO et al., 2009), necessitar de pouco volume de amostra (ZWART; SLOOFF, 1983) além de ter um alto grau de correlação entre seus resultados e a de outros bioensaios (WATERMODERN, 2010). Quando comparado com outros organismos, Bullich observou uma boa correlação entre a toxicidade quando comparada com peixes (97,5%) e *Daphnia* (96,1%), apesar da maior sensibilidade destas últimas (BULLICH, 1989).

3.6.2 Teste de Toxicidade Aguda em *D. similis*

Invertebrados são amplamente utilizados na avaliação dos efeitos de poluentes em ambientes aquáticos, sendo os microcústáceos de água doce, *Daphnia magna* os mais utilizados para caracterizar água e efluente. *D. similis*, apesar de não ser um animal nativo, é mais comumente utilizada no Brasil (CETESB, 1991; ABNT, 2009) e seus métodos se assemelham aos da USEPA, (1991; 1993; 2002) e ISO (1996), em que se avalia a imobilidade e reprodução dos organismos.

Os dafinídeos, representantes do gênero *Daphnia*, são uma importante fonte de organismos para testes de toxicidade aguda, por serem bastante sensíveis a poluentes, facilmente cultiváveis em laboratório e por apresentarem estabilidade genética (reprodução partenogenética), o que proporciona a obtenção de lotes bem uniformes de organismos (HANAZATO, 1998; DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006), além de ocupar uma posição central na cadeia alimentar (HANAZATO, 1998).

Estudos realizados em crustáceos do gênero *Daphnia* demonstraram o efeito da toxicidade de pesticidas e herbicidas para esses organismos (HERNANDO et al., 2003; VILLARROEL et al., 2003; SOUZA, 2009). Além disso, apresentam uma sensibilidade que pode ser comparada com animais aquáticos mais derivados, como peixes (MARTINS et al., 2007).

Essas espécies possuem entre 0,5 a 5,0 mm de comprimento e uma carapaça bivalve transparente que encerra quase todo o corpo, com exceção da cabeça e das antenas. São organismos filtradores, na qual suas pernas repletas de cerdas atuam como peneiras, retendo algas, bactérias e pequenas partículas de material orgânico (BUIKEMA JUNIOR; SHEBERGER, 1977).

Em condições favoráveis, os dafinídeos produzem entre 4 a 65 neonatas antes de cada muda, sendo a reprodução predominantemente partenogenética, o que garante que a

população seja constituída inteiramente por fêmeas com uma mesma consistência genética. Em condições laboratoriais a quantidade de ovos pode variar de seis a dez por organismos, ou quinze a vinte em organismos mais velhos (APHA-AWWA-WEF, 2005).

No entanto, em caso de estresse ambiental (superpopulação e subsequente acúmulo de excretas e falta de alimento), pode ocorrer o aparecimento de machos na população. Essas condições, juntamente com a exposição a temperaturas extremas podem induzir o aparecimento de ovos de resistência (efípios). Quando tal fato ocorre todo o lote de organismos deve ser descartado, pois isso indica que houve uma desuniformização genética do mesmo (DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006) que pode interferir na interpretação correta dos resultados dos testes.

O teste de toxicidade aguda em *D. similis* (Crustacea, Cladocera) consiste na exposição do organismo jovem (neonatas), de 6 a 24 horas de vida, a diferentes diluições da amostra. O teste permite avaliar a ocorrência de efeitos agudos, quando ocorre a imobilidade de número significativo de organismos, dentro de um período de 48 horas.

3.6.3 Bioensaio com *A. cepa*

O *A. cepa* é utilizado na avaliação de amostras ambientais, como esgotos industriais e domésticos (GROVER; KAUR, 1999; MATSUMOTO; MARIN-MORALES, 2004) e solos contaminados (COTELLE; MASFARAUD; FÉRARD, 1999; SOUZA; SOUZA et al., 2009), mostrando-se eficiente na avaliação de inseticidas (BIANCHI, 2008; PEDRO, 2008), herbicidas (VENTURA, 2004; FERNANDES et al., 2007) e corantes (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008).

Os testes biológicos em vegetais baseiam-se na avaliação da frequência de micronúcleos, aberrações cromossômicas e alterações no índice mitótico (IM) das células meristemáticas da raíz (FISKESJÖ, 1985; MELLO et al, 2004). As principais aberrações

cromossômicas observadas são C-metáfase, pontes cromossômicas e cromossomos aderidos (FISKESJÖ, 1985; MARCANO et al., 2004) que são consideradas indicadoras de genotoxicidade, além da presença de micronúcleos, um indicador de mutagênicidade (MARCANO et al., 2004; CHANDRA et al, 2005). Uma alteração do IM significa uma resposta citotóxica das células meristemáticas da raiz da cebola (MARCANO et al., 2004; CHANDRA et al, 2005).

As células meristemáticas da raiz de cebola foram inicialmente utilizadas por Levan, em 1938, para estudos de clastogênese, quando o autor demonstrou que a colchicina poderia causar distúrbios no fuso mitótico, levando a uma poliploidização das células nessa região da raiz (FISKESJÖ, 1985). Além disso, demonstrou que diferentes soluções de sais orgânicos podem induzir diversos tipos de aberrações cromossômicas (LEVAN, 1945).

Seu uso foi também disseminado devido a características favoráveis, tais como: conhecimento do seu ciclo celular; resposta à inúmeros mutágenos conhecidos; rápido crescimento de suas raízes; grande número de células em divisão; alta tolerância às diversas condições de cultivo; disponibilidade, fácil manuseio e por possuir cromossomos em número reduzido ($2n=16$) e de grande tamanho (FISKEJÖ, 1985; QUINZANI-JORDÃO, 1987; GRANT, 1994; EGITO et al., 2007), metodologia simples, baixo custo e facilidades de aplicação (GROVER; KAUR, 1999).

Segundo Chandra e colaboradores (2005) é possível obter resultados significativos de toxicidade de amostras mistas complexas por meio de testes de mutagenicidade com vegetais. Outra vantagem seria a relativa rapidez do teste bem como sua adequada sensibilidade e o seu baixo custo, que permite uma ampla aplicação no estudo da degradação de corpos de água, principalmente devido a crescente atividade industrial e agrícola (AMARAL et al, 2007).

Por fim, uma vez que efluentes hospitalares apresentam uma grande variedade de compostos como fármacos, desinfetantes, produtos de cuidado pessoal, entre outros é importante avaliar seu potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico (SILVEIRA, 2004).

Além disso, é importante o estudo com representantes de plantas superiores principalmente quando o objetivo é o reúso agrícola. Além de constituírem um sistema teste satisfatório para monitorar a presença de substâncias mutagênicas (GRANT, 1994), suas raízes são muito úteis em testes biológicos, pois são as primeiras a manterem contato com as variações químicas da água e do solo (FISKESJÖ, 1988).

4. Materiais e Métodos

4.1 Caracterização da área de estudo

A área de estudo, na qual o projeto foi realizado está localizada nas proximidades do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em área experimental do Departamento de Saneamento e Ambiente da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FEC), nas dependências do Laboratório de Protótipos ao Tratamento de Águas e Efluentes (LABPRO) da mesma Faculdade, no campus da UNICAMP, Campinas/SP ($22^{\circ}49'29.20''S$; $47^{\circ}03'48.25''W$) (Figura 4.1).



Figura 4.1- Área experimental para a realização dos experimentos. HC: Hospital de Clínicas; setas apontando para 1: Estação de Tratamento de Esgoto; 2: Área Experimental. Fonte: GoogleMaps.

Nessa área foi instalado um ambiente de estufa (16,0 m de largura; 33,0 m de comprimento e 4,5 m de altura máxima do pé-direito) do tipo Arco, com cobertura de polietileno de baixa densidade, e laterais fechadas com telas de sombreamento (sombrite) (Figura 4.2). A estufa foi equipada com dispositivo de controle de temperatura por um sistema de nebulização.



Figura 4.2- Estufa onde estão localizados os canteiros com as rosas. Fonte: Torres, D.L.F.F.

No interior da estufa foram construídos 28 canteiros em alvenaria com dimensões de 3x3 m de comprimento e 0,4 m de profundidade dispostos em sete linhas, sentido Norte-Sul (Figura 4.3). Cada linha de canteiro recebe um sistema de irrigação correspondente a um tipo de tratamento de efluente em uma ETE piloto representada na Figura 4.1.



Figura 4.3 - Área interna da estufa mostrando a disposição dos canteiros. Fonte: Torres, D.L.F.F.

4.2 Considerações sobre a estação de tratamento do esgoto: Sistemas de Tratamento e Sistemas de Operação

A área de estudo apresentada permitiu que uma diversidade de estudos ocorresse simultaneamente integrando um projeto único. De uma forma geral, o projeto global objetivou estudar o reúso de água proveniente de um sistema de tratamento de esgoto, na agricultura. Para isso, pesquisas pontuais foram realizadas a fim de contemplar cada etapa do projeto. Por isso, é importante inserir uma breve consideração sobre o funcionamento da estação de tratamento de esgoto já que o efluente tratado, objeto de outras pesquisas, foi utilizado como amostra para a realização do estudo.

A estação de tratamento piloto foi constituída pela captação do efluente por um sistema de gradeamento para remoção de sólidos grosseiros, e sequencialmente por três caixas de armazenamento e distribuição de efluente, cinco filtros anaeróbios, quatro filtros de areia, e duas caixas de armazenamento e distribuição de efluente tratado para a irrigação (MARINHO, 2010; TONON, 2011).

Os tratamentos realizados foram objetivos de pesquisas que integraram o Edital 5 do PROSAB da Finep (MOTA, 2009), o qual contemplou as pesquisas de Tonetti, 2004; Cruz, 2009; Marinho, 2010; Gabrielli, 2011 e Tonon, 2011.

O sistema de tratamento de esgoto gerou dois efluentes que foram aplicados na irrigação das rosas. O efluente tratado por filtros anaeróbios: efluente anaeróbio, e o efluente anaeróbio tratado em filtros de areia: efluente nitrificado.

4.2.1 Efluente bruto: caracterização

O efluente bruto do complexo hospitalar é predominantemente proveniente de uma região da Universidade na qual circulam diariamente cerca de 10 mil pessoas e é conhecida como Área da Saúde, correspondendo ao Hospital de Clínicas da Unicamp, Creche da Área de Saúde, Escola Estadual “Físico Sérgio Pereira Porto”, Almoxarifado Central, Centro de Engenharia Biomédica, Banco Santander, Centro de Assistência Integral à Saúde da Mulher (CAISM), Gastrocentro, Hemocentro, Ambulatório de Primeiro Atendimento, Centro Integrado de Pesquisas na Infância e Centro de Saúde da Comunidade (CECOM).

4.2.2 Tratamento do efluente bruto: Tratamento anaeróbio

O efluente bruto passou inicialmente por um sistema de gradeamento, em que ocorreu o aprisionamento de sólidos grosseiros e materiais flutuantes. Posteriormente foi captado por uma bomba submersa (Bomba Anauger 800) adaptada dentro de um recipiente com capacidade para 50L. A bomba foi responsável por transportar o efluente através de um

tubo de 0,016 m de diâmetro até as caixas de armazenamento e distribuí-lo inicialmente a uma caixa de armazenamento (Figura 4.4).

A caixa de armazenamento localizou-se no topo de uma torre de 4,50 m de altura, onde foram instaladas duas caixas de armazenamento de capacidade igual a 500L. A primeira caixa (C1) localizou-se à 4,50 m e a segunda caixa (C2) à 3,20 m do solo. Estas duas caixas funcionaram como tanques sépticos.

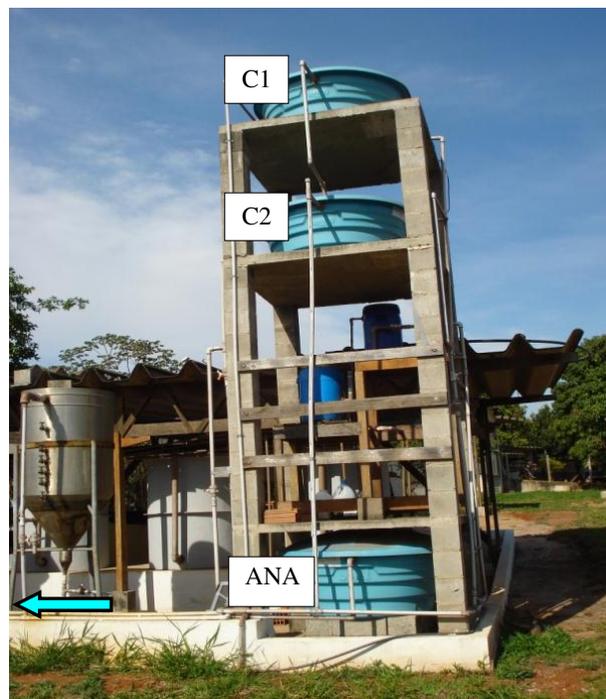


Figura 4.4- Caixas de recepção do efluente bruto (C1; C2); caixa de armazenamento do efluente anaeróbico; seta indicando a distribuição do efluente para o sistema. Fonte: TONON, 2011 (Adaptado).

O efluente da segunda caixa (C2) foi responsável pela manutenção da carga hidráulica no sistema para alimentação dos reatores e posteriormente seguiu através de tubos de PVC (0,032 m de diâmetro) para os filtros anaeróbios, construídos em aço inox com formato

cilíndrico (500L), com altura de 1,68 m e diâmetro interno de 0,75 m. Os filtros possuíam um fundo cônico preenchido por uma grade de bambu cujos espaços livres impediram a passagem do meio suporte, feito com cascas de coco verde (*Cocos nucifera*), que foram cortadas em quatro partes. Além disso, outra grade de bambu, localizada na superfície do leito, impediu que o meio suporte se movimentasse. Tal delineamento permitiu a distribuição homogênea do esgoto. Vale ressaltar que o preenchimento com diferentes meio suportes deveu-se a realização de pesquisa em que se objetivou estudar a eficiência de diferentes meio suporte (TONETTI, 2004; CRUZ, 2009).

4.2.3 Pós-tratamento do efluente anaeróbio: Filtros de areia

Na construção dos filtros de areia (FA1, FA2, FA3 e FA4), foram utilizadas caixas cilíndricas de fibra de vidro, de diâmetro interno igual a 1,00 m, aberta na parte superior e com um pequeno orifício de 0,032 m na parte inferior, onde foi instalada a tubulação de saída do efluente. Três camadas estratificadas foram empregadas para a composição do leito a partir da base do reator (brita 2, brita 1 e areia) (TONON, 2011) com diâmetro efetivo, coeficiente de uniformidade e coeficiente de vazios mais adequado para o tratamento (TONETTI, 2004; TONON, 2011).

No interior do reator, foi acoplada uma estrutura em forma de cruz, tendo sua extensão superior, inferior e laterais perfuradas com diâmetro de 0,020 m espaçadas por 0,020 m, para captação de ar. Isso permitiu que ocorresse a nitrificação.

4.2.4 Sistema operacional: Filtros anaeróbios

Os filtros anaeróbios operaram com fluxo ascendente e tempo de detenção hidráulica (TDH) nominal de 9 horas. A vazão de $11,5 \text{ mL s}^{-1}$ foi controlada diariamente por meio de registros.

4.2.5 Sistema Operacional: Filtros de areia

O efluente anaeróbio foi aplicado nos filtros de areia entre as segundas-feiras e as sextas-feiras sobre a superfície dos leitos de areia em taxas de 700 a 800 Lm^{-2} , e após a passagem do efluente anaeróbio pelos filtros de areia, estes foram armazenados em caixas de 1000 L para a irrigação da cultura de rosas (TONON, 2011).

Em continuidade ao estudo realizado por Cruz (2009), a automatização do sistema foi realizada por meio de quatro bombas (ASKO, Modelo 602247) conhecidas comercialmente como “Bomba de Máquina de Lavar Roupas”, e quatro válvulas utilizadas para a aplicação do sal carbonato de potássio.

As bombas foram acionadas por um controlador programável em horários determinados e permaneceram ligadas durante quatro minutos para que o efluente anaeróbico fosse recalcado para os filtros de areia. Durante a aplicação, 100 mL do sal carbonato de potássio, K_2CO_3 (Concentração 100g/L) foram adicionados para controle do pH e da alcalinidade.

O K_2CO_3 foi escolhido principalmente por não ser prejudicial na utilização como água de reúso. Além disso, apresenta solubilidade em água e baixo valor comercial. Tonon (2011), em seu estudo, adicionou em cada aplicação de 50 L m^{-2} , 100 mL de solução de carbonato de potássio com concentração de 100 g L^{-1} .

4.3 Sistema de irrigação

A cultura escolhida foi a *Rosa sp.*, variedade Ambiance enxertadas em porta-enxerto Natal-Bryan. As mudas foram transplantadas nos canteiros em 2009 com espaçamento entre plantas de 0,15m e entre linhas 1,25 m, totalizando 16 plantas por linha e 48 plantas por canteiro (MARINHO, 2010).

A irrigação foi realizada por gotejamento, de acordo com a necessidade hídrica da cultura, para manter o solo com leituras tensiométricas em torno de -10 kPa, conforme recomendado por Casarini (2004). Adicionalmente, foram instalados micro-aspersores distribuídos na estufa para garantir a umidade e temperaturas ideais para a cultura (MARINHO, 2010).

O delineamento experimental foi casualizado, contendo quatro repetições e seis tratamentos, sendo duas repetições com água, duas com efluente anaeróbico e duas com efluente nitrificado.

4.4 Análise dos efluentes

4.4.1 Coleta dos efluentes

Para a realização do presente estudo, os efluentes foram coletados em frascos de vidro e armazenados, segundo a norma ABNT 12713 (2009), sob refrigeração a cerca de 4°C , até o dia da realização do ensaio, por no máximo 48 horas. As coletas foram realizadas sempre no período da manhã, horário em que as temperaturas são mais amenas, no período de julho de 2010 a dezembro de 2011, para avaliação dos parâmetros físico-químicos e para os testes de toxicidade. Vale ressaltar que no período de férias escolares (julho, janeiro e

fevereiro) as coletas não foram realizadas, pois o fluxo de pessoas era muito baixo e a ETE piloto permanecia em manutenção.

4.4.2 Análises físico-químicas do efluente

Após a coleta, parâmetros físico-químicos dos efluentes, tais como: pH, Oxigênio Dissolvido (OD), Condutividade Elétrica (CE) foram mensurados, para correta compreensão dos testes de toxicidade realizados, pois esses parâmetros relacionam-se com as condições de sobrevivência dos organismos utilizados para os testes de toxicidade. Assim, quando não adequados para os organismos-teste podem atuar como interferentes e prejudicar a análise final do resultado.

Análises se parâmetros físico-químicos, como temperatura, turbidez, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO), carbono orgânico dissolvido (COD), série do nitrogênio e coliformes totais, *Escherichia coli* (kit Colilert®), e análises microbiológicas foram realizados pelo estudo de Tonon (2011).

4.5 Materiais Biológicos

Para a realização dos bioensaios foram utilizados três organismos-teste: a fotobactéria marinha *V. fischeri* (NRRL B-11177, Biolux®Lyo), em formulação liofilizada, o crustáceo da espécie *D. similis* (Crustacea, Cladocera), popularmente conhecidas como pulga-d'água, cultivadas em laboratório e sementes de *A. cepa* (Liliaceae), para análise de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.

4.5.1 Teste de toxicidade aguda em *V. fischeri*

Os testes de toxicidade aguda em *V. fischeri* foram realizadas no Laboratório de Saneamento da FEAGRI, de acordo com a norma L5.227 da CETESB (2001), utilizando o sistema-teste Microtox™ 500 Analyser (Figura 4.5). O equipamento que funciona como um fotômetro foi capaz de medir as variações da luminescência da bactéria, e manter uma temperatura adequada as bactérias (4°C) e as amostras (15°C). Foi acoplado em um computador no qual foi instalado o Software Microtox Omni, que gerou o procedimento do teste e posteriormente calculou o resultado em tempo real.



Figura 4.5- Equipamento utilizado para a realização do ensaio de toxicidade aguda em *V. fischeri*: Analisador de toxicidade Microtox™500 Analyser. Fonte: TORRES, D.L.F.F.

Inicialmente desejou-se realizar testes mensalmente. No entanto, algumas dificuldades encontradas tanto na manutenção da ETE piloto como na disponibilidade de agenda do laboratório impossibilitaram tal delineamento. As análises foram então realizadas sempre que possível. O período mais crítico do estudo ocorreu entre março e outubro de 2011, quando a ETE piloto permaneceu sem funcionamento devido a problemas técnicos.

4.5.1.1 Avaliação do organismo-teste

Anteriormente à realização dos testes com as amostras, foi realizado um teste de sensibilidade com sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) p.a., (*Zinc Test*) de acordo com os procedimentos do Software Microtox Omni[®]. O referido teste teve duração de 15 minutos, e sua Concentração Efetiva Mediana (CE50) foi calculada. Segundo a norma L5.227 da CETESB (2001) a faixa ideal deve corresponder a faixa de 3,0 a 10,0 mgL^{-1} .

4.5.1.2 Realização dos testes com as amostras

A análise das amostras (efluente bruto e tratados) foi realizada de acordo com os procedimentos do *Basic Test* 81,9%, que se refere a maior concentração da amostra em uma série de diluição de 1:2 (81,9%; 40,95%; 20,47%; 10,24% e 5,12%).

Primeiramente foi mensurada a salinidade das amostras segundo o método 2520 da APHA-AWWA-WEF (2005) que possibilitou a conversão dos valores de CE em salinidade. As amostras foram então diluídas em diluente (solução de cloreto de sódio a 2%, previamente preparada) e dispostas em cubetas de vidro no aparelho (Figura 4.6A). Posteriormente, foi feito o ajuste osmótico das amostras com solução de cloreto de sódio a 22%, previamente preparada e armazenada em geladeira.

As bactérias utilizadas, armazenadas à 18°C negativos em formulação liofilizada (NRRL B-11177, Biolux[®]Lyo), foram reativadas em uma solução tampão de reativação em que 1 mL da referida solução foi vertida cuidadosamente dentro do recipiente da bactéria, e em seguida retornado a uma cubeta que permaneceu em um local do aparelho que manteve sua temperatura adequada, constituindo a suspensão-mãe. A bactéria foi utilizada por no máximo 3 horas após sua reativação, pois após esse período a incidência de sua luminescência decai e que pode prejudicar o resultado do teste.

A suspensão-mãe das bactérias foi diluída em diluente, e após 15 minutos, (período de aclimação das bactérias), 100µL desta solução foram distribuídos nas cubetas (Cubetas Série B, Figura 4.6B) e foi realizada uma leitura inicial (I_0), em que se avaliou somente a luminescência das bactérias (Figura 4.6B).

Após a leitura do I_0 , as amostras previamente diluídas (Cubetas Série A, Figura 4.6A), foram colocadas nas cubetas que receberam a suspensão de bactérias reconstituídas (Cubetas Série 4.6B, Figura 4.6B), e foi realizada nova leitura, após cinco minutos (Figura 4.6C) e 15 minutos (Figura 4.6D) e calculou-se a CE 50.

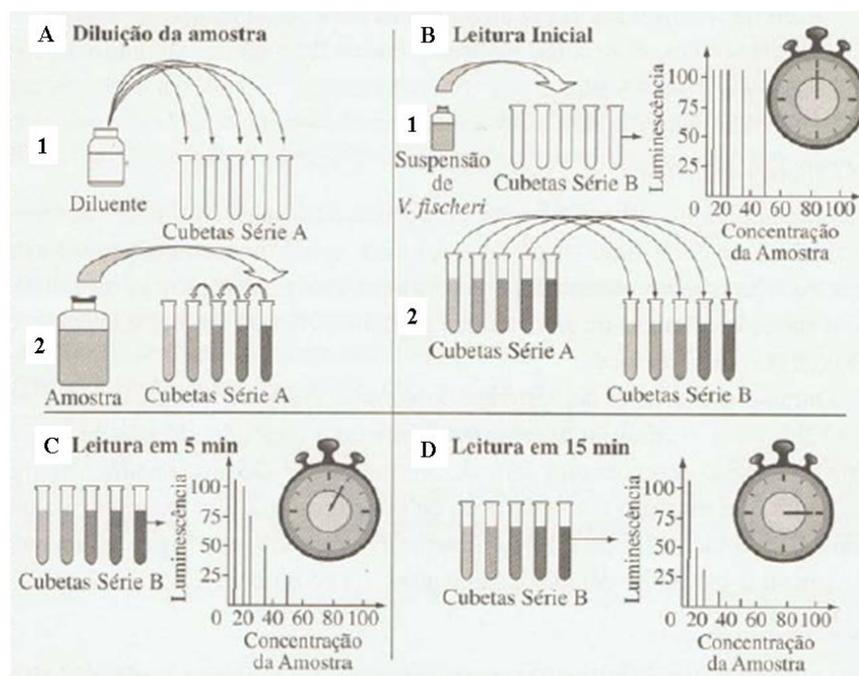


Figura 4.6 - Representação do procedimento do teste de toxicidade aguda com *V. fischeri*.
Fonte: CETESB, 2001(Adaptado).

4.5.1.3 Avaliação dos resultados

A avaliação dos resultados foi feita por meio da Concentração Efetiva Mediana (CE50) conjuntamente com valores do limite de confiança (95%FC) nos diferentes tempos de exposição. O cálculo da CE50 foi feito automaticamente pelo software, que gerou um gráfico do efeito gama (razão entre diminuição da luminescência da bactéria e a quantidade de luz remanescente para cada diluição da amostra testada nos diferentes tempos de exposição) e outro da porcentagem de efeito (diferença em porcentagem da quantidade de luz entre a amostra testada e o controle).

O cálculo da CE50 foi feito por uma regressão linear obtida entre os logaritmos da concentração testada versus os logaritmos dos valores de gama obtidos para cada diluição da amostra testada. Além da CE50 foi também gerado seu valor correspondente em Unidade de Toxicidade (UT).

A Redução de Toxicidade, eq. (4.2) foi também calculada com o intuito de avaliar a eficiência de redução de toxicidade dos efluentes tratados em relação ao efluente bruto.

$$RT = \left[1 - \left(\frac{UT (Etratado)}{UT (EBruto)} \right) \right] \times 100 \quad (4.2)$$

4.5.2 Teste de toxicidade aguda em *D. similis*

Os testes de toxicidade aguda em *D. similis* obedeceu o mesmo planejamento dos testes realizados com *V. fischeri*.

4.5.2.1 Manutenção dos organismos

Os organismos-teste foram mantidos no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Agricultura da Unicamp- FEAGRI em meio de cultura apropriada sob fotoperíodo de 16 horas/dia controlado por timer eletrônico em recipientes de vidro inerte com até 25 organismos adultos L⁻¹. Os organismos foram cultivados em água de cultivo preparada: água deionizada pelo sistema de purificação de água Millipore-Milli-Q com a adição de soluções determinadas (ABNT 12713, 2009).

Os organismos foram mantidos por aproximadamente 28 dias, sendo realizado o descarte e renovação dos lotes após esse período. Duas vezes por semana foi realizada a troca de água e uma avaliação tanto dos parâmetros da água de cultivo como dos organismos. A cada preparo da água de cultivo, os parâmetros como: pH, OD, Dureza, Condutividade Elétrica- CE, e temperatura foram mensurados e tabelados para avaliar a qualidade do organismo, e assim não ocasionar prejuízo à cultura e inviabilizar a realização dos testes (ABNT 12713, 2009). Em relação a avaliação dos organismos, a cada troca de água foi realizada a observação para verificação de uma redução numérica ou da presença de efípios. Quando ocorreu uma redução de 10% do total de organismos, ou quando houve a presença de efípios o lote foi descartado e as neonatas não foram utilizadas para teste, pois tais fatores podem comprometer a viabilidade do teste (ABNT 12713, 2009).

A alimentação foi realizada diariamente, com cultura de algas da espécie *Pseudokirchneriella subcaptata* (anteriormente *Selenastrum capricornutum*), Eukaria, Chloroficeae (1 a 5x10⁶ células/ organismo), e alimento complementar a base de ração de truta (0,02mL/organismo). Os alimentos eram preparados e armazenados em geladeira por no máximo 15 dias.

4.5.2.2 Avaliação dos organismos-teste

A avaliação da qualidade do organismo foi realizada seguindo o mesmo procedimento dos testes com as amostras. A substância escolhida foi o cloreto de sódio (NaCl), substância recomendada pela NBR 12713 (ABNT, 2009), de fácil obtenção e baixo risco ambiental. Os valores de CE50 encontrados foram tabelados com o objetivo inicial de delinear uma carta-controle, ou seja, um gráfico que contém 20 resultados consecutivos de ensaio de toxicidade comparados com o valor da média e desvio padrão destes ensaios. No entanto, como não foi possível a realização de 20 ensaios consecutivos, optou-se por calcular uma média provisória com relativo desvio-padrão dos ensaios realizados.

Os testes de sensibilidades foram realizados paralelamente aos testes de toxicidade aguda, como uma forma de conferir uma maior confiabilidade nos resultados dos testes com as amostras.

4.5.2.3 Realização dos testes com as amostras

Para a avaliação da toxicidade aguda em *D. similis*, observou-se o número de organismos imóveis expostos em diferentes diluições, após 48h de exposição. Primeiramente realizou-se a coleta das amostras, que foram coletadas e mantidas sob refrigeração a 4°C até a realização do teste, por no máximo 48 horas.

Posteriormente, foi preparada uma série de soluções-teste intermediárias de razão de diluição pré-definida de acordo com resultados obtidos em testes preliminares, que foram realizados para estabelecer o intervalo de soluções-teste.

Utilizou-se um mínimo de cinco soluções-teste. A série de diluições foi preparada em tubos de ensaio e homogeneizada com o auxílio de agitador tipo vortex Fisatom-771.

Posteriormente as neonatas (de 6 a 24 horas de vida) foram transferidas cuidadosamente e de forma aleatória para cada solução-teste e controle negativo (água de cultivo), utilizando-se pipetas Pasteur, e tiveram os seus frascos cobertos. A transferência dos organismos foi realizada cuidadosamente a fim de se evitar a alteração da concentração final da solução-teste, bem como a entrada de ar sob a carapaça do organismo.

Para cada diluição foi utilizado um mínimo de 20 organismos-testes distribuídos igualmente em duas réplicas. Dessa forma, foi possível determinar a menor solução-teste, que causa imobilidade de 100% dos organismos, e a maior solução-teste, em que não se observa a imobilidade. Foram consideradas imóveis as neonatas que permaneceram ao fundo do recipiente da amostra, sem apresentarem movimento de natação durante 15 segundos de observação. O teste foi mantido por 48 horas no escuro, em câmara incubadora BOD a temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$. Durante a realização do teste, os organismos foram privados de alimentação.

4.5.2.4 Avaliação dos resultados

Os dados foram registrados em tabela em que foi anotado o número de organismos imóveis observados em cada diluição, bem como dados referentes ao teste. A análise estatística para a determinação da CE50 (%) foi realizada por meio do programa estatístico Trimmed Spearman Karber.

Os valores da Unidade de Toxicidade (TU) foram calculados de acordo com o manual da USEPA: eq.(4.3) como uma forma de padronização dos resultados, uma vez que expressa a toxicidade de uma forma direta, ou seja, quanto maior o valor numérico de UT maior é a toxicidade.

$$TU = \frac{100}{15\text{minEC50}} \quad (4.3)$$

Da mesma forma que para os testes realizados com *V. fischeri*, a Redução de Toxicidade, eq. (4.2) foi também calculada com o intuito de avaliar a eficiência de redução de toxicidade dos efluentes tratados em relação ao efluente bruto.

4.5.3 Bioensaio com *A. cepa*

Para a realização do teste de aberração cromossômica e micronúcleo com *A. cepa* (Liliaceae), foram utilizados sementes da marca TopSeed®, de mesmo lote e prazo de validade, a fim de evitar diferentes respostas às diversas etapas dos testes. As sementes de *A. cepa* foram submetidas à germinação nos efluentes, para controles positivos à solução de 10 µL/mL de metilmetanosulfonato® (CAS N°66-27-3), um conhecido clastogênico e à 0,84 ppm de trifluralina® (CAS N°1582-09-8), de ação aneugênica e, água ultra pura para controle negativo.

Os ensaios foram realizados em placas de Petri, contendo papel filtro e 100 sementes em cada placa. O papel filtro foi saturado com a solução teste, e mantidos em BOD até que as sementes atingissem dois centímetros de comprimento, em tratamento contínuo. Posteriormente, algumas raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy 3:1 (3 partes álcool etílico PA : 1 parte de ácido acético glacial PA) por seis horas, sendo, após este período, transferidas para um novo Carnoy, no qual foram conservadas em geladeira, até sua utilização.

Para realizar as análises citológicas, as raízes foram submetidos a uma hidrólise ácida em HCl 1N a 60° C, durante 9 minutos, seguida de uma lavagem em água destilada. Logo após, foram colocadas em reativo de Schiff, por duas horas. Na confecção das lâminas, utilizou-se carmim acético 2% como contra-corante, o que também facilitou o espalhamento das células. Todas as lâminas foram obtidas, submetendo os meristemas radiculares a um esmagamento suave entre lâmina e lamínula. As lamínulas foram extraídas em nitrogênio líquido e as lâminas foram montadas em Permount, para serem posteriormente analisadas.

Células em intérfase e em divisão foram examinadas para observar a indução de aberrações cromossômicas e nucleares, tais como: C-metáfases, metáfases poliplóides e com aderência cromossômica, anáfases (multipolares, com pontes e atraso cromossômico, fragmentos e perda cromossômica), telófases anormais (com pontes, perda e atraso cromossômico) e brotos nucleares. Para a avaliação do potencial mutagênico as células micronucleadas e portadoras de quebras cromossômicas foram analisadas e contabilizadas conjuntamente.

4.5.3.1 Avaliação dos resultados

Foram analisadas 1000 células meristemáticas de *A. cepa* por lâmina, para se determinar e comparar as frequências de células interfásicas, mitóticas e em processo de morte celular. Para a avaliação das lâminas por meio da técnica citogenética convencional, o potencial citotóxico foi avaliado pelo índice mitótico: (número de células em divisão/ número total observado) x 100. Considerou-se também a presença de células em processo de morte celular.

A análise estatística dos dados foi realizada pelo método de Mann-Whitney, em que a os resultados obtidos nas amostras testadas e no controle positivo foram comparadas com as do controle negativo.

5. Resultados e Discussão

Serão expostos primeiramente os resultados referentes às análises físico-químicas, e posteriormente os referentes as análises de toxicidade com os organismos-teste (*V. fischeri*, *D. similis* e *A. cepa*).

5.1 Análises físico-químicas dos efluentes

Durante o desenvolvimento do projeto foi realizada a mensuração de parâmetros físico-químicos importantes para a avaliação do tratamento biológico dos efluentes e também para a verificação da validação dos testes de toxicidade aguda, tais como: temperatura, pH, oxigênio dissolvido - OD, condutividade elétrica – CE. Além disso, foram realizadas análises de Razão de Adsorção de Sódio – RAS, Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO, Demanda Química de Oxigênio - DQO, série de Nitrogênio (MARINHO, 2010; TONON, 2011).

5.1.1 Temperatura

A temperatura é um parâmetro importante uma vez que pode funcionar como um fator limitante aos microrganismos responsáveis pelo processo de tratamento do efluente, e aos organismos utilizados como teste.

Para avaliação do tratamento biológico dos efluentes, Tonon (2011) registrou as temperaturas do período da manhã, que apresentaram médias de $24,2 \pm 5,1$ °C para o ambiente local do projeto, e $21,9 \pm 4,6$ °C no interior do leito de areia. O registro no período matutino foi escolhido para reduzir variações de temperatura uma vez que esse período apresenta temperaturas mais amenas (TONON, 2011).

Segundo Gerardi (2002) as temperaturas observadas apresentaram-se dentro da faixa adequada ao processo de nitrificação, o que confirma os resultados obtidos por Tonon (2011), que demonstraram que a temperatura apresentou-se adequada ao tratamento, uma vez que não funcionou como um limitante durante o processo.

Para os testes de toxicidade aguda em *D. similis* e *V. fischeri*, as amostras foram previamente aclimatadas, de acordo com o organismo-teste para prevenir uma interferência no desenvolvimento do teste. Assim, os testes foram realizados de acordo com a faixa de temperatura tolerável: 15 ± 1 °C para *V. fischeri* (CETESB, 2001) e 20 ± 2 °C para *D. similis* (ABNT, 2009).

5.1.2 pH

A mensuração do pH dos efluentes analisados precedeu a realização dos testes de toxicidade realizados. Imediatamente após a coleta dos efluentes os mesmos foram levados ao laboratório para a mensuração dos parâmetros em pHmetro DM 20 Digimed®.

O valores das médias do pH do efluente bruto, anaeróbio e nitrificado (Tabela 5.4) apresentaram-se adequados a faixa de pH ideal tanto para a realização do tratamento biológico do efluente (TONON, 2011), quanto para as exigências biológicas dos organismos-teste (CETESB, 2009; DOMINGUES; BERTOLETTI, 2006), como *D. similis* e *V. fischeri*.

Considerando ainda que o efluente final é o nitrificado, vale ressaltar que tal valor de pH esteve de acordo com os padrões de lançamento fixados pela CONAMA 430/ 2011, que define como padrão o valor de pH de 5 a 9 para lançamento em corpos de água de classe 2.

Em relação à aplicação na agricultura, quando o pH se apresentou abaixo do recomendado para o processo de nitrificação, foi aplicado o carbonato de potássio no efluente anaeróbio sob o leito dos filtros de areia, pois valores de pH muito abaixo de 6,5 podem prejudicar o metabolismo das bactérias nitrificantes (METCALF & EDDY Inc., 2003), o que pode ser observado pela elevação da concentração de Nitrogênio Total Kjeldahl - NTK no efluente. A escolha do sal se deu pela sua natureza alcalina e por apresentar íons de potássio em sua composição, que podem ser benéficos à cultura irrigada (MARINHO, 2011).

Tabela 5.4- Média e Desvio Padrão dos Valores de pH mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011

	Efluente Bruto	Efluente Anaeróbio	Efluente Nitrificado
pH	6,92 ± 0,72	7,52 ± 0,59	6,08 ± 1,03

5.1.3 Oxigênio Dissolvido (OD)

Assim como o pH, o OD também foi mensurado anteriormente à realização dos testes de toxicidade e imediatamente após a coleta das amostras (Tabela 5.5).

Valores de OD inferiores a 0,5 ou 1 mgO₂.L⁻¹ podem interferir na interpretação dos resultados dos testes de toxicidade em *V. fischeri* e *D. similis*, respectivamente (ABNT, 2009; CETESB, 2001).

Nos testes de toxicidade aguda em *V. fischeri* não houve nenhuma amostra com OD menor 0,5 mgO₂.L⁻¹. A mensuração foi realizada somente na amostra a 100%, por uma questão de limitação de equipamento laboratorial.

No teste de toxicidade aguda em *D. similis*, um valor inferior a $1 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ pode comprometer a interpretação do resultado do testes. No entanto, foram poucas as amostras que apresentaram esse limite tolerante de OD, que se restringiram ao efluente anaeróbio, pelas condições anóxicas do tratamento. Ademais, as amostras foram preparadas em recipientes adequados em que se utilizou um número reduzido de animais (cinco neonatas para um volume de 10mL), o que contribuiu para diminuir o consumo de oxigênio.

Além disso, a estrutura delgada da parte interna das valvas da carapaça pode contribuir para uma melhor eficiência respiratória do animal conjuntamente com o formato afunilado do rosto, que facilita o transporte de oxigênio ao sistema nervoso central, local importante para a manutenção das funções vitais de controle durante condições hipóxicas (CLARE, 2002).

Para o efluente nitrificado, a concentração de OD permaneceu acima do limite para todas as amostras. Segundo Tonon (2011), a aplicação intermitente de efluente sob o leito dos filtros de areia, contribuiu para manter a capacidade de aeração nos leitos. Além disso, a implantação da aeração natural superior, também contribuiu para a manutenção da concentração de oxigênio dissolvido (TONON, 2011). Sendo assim, os valores de OD também ficaram acima do limite mínimo permitido para o enquadramento em um corpo de Classe 2, podendo ser lançado ainda, um corpo de Classe 1, em relação aos níveis de OD (CONAMA, 430/2011).

Tabela 5.5- Média e Desvio Padrão dos Valores de Oxigênio Dissolvido mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011

	Efluente Bruto	Efluente Anaeróbio	Efluente Nitrificado
OD ($\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$)	$1,29 \pm 0,14$	$1,25 \pm 0,60$	$4,08 \pm 1,65$

5.1.4 Condutividade Elétrica (CE)

A condutividade elétrica foi também mensurada anteriormente à realização dos testes de toxicidade e imediatamente após a coleta das amostras. Assim que coletados, os efluentes foram levados ao laboratório para a mensuração em Condutivímetro DM31 Digimed® (Tabela 5.6).

Para todos os valores mensurados, a CE do efluente anaeróbio foi superior ao valor alcançado pelo efluente bruto, o que pode ser explicado por uma possível mineralização de parte da matéria orgânica que conseqüentemente eleva a concentração de sais e concomitantemente a CE (TONETTI, 2008). A degradação de moléculas complexas em mais simples, como ácidos orgânicos e nitrogênio amoniacal acabam contribuindo para o aumento dos valores de condutividade (TONETTI, 2008). Polglase e colaboradores (1995) também observaram a mineralização do nitrogênio e sua transformação em amônia. Vale salientar também que a CE aumentou a medida que o composto alcalino foi adicionado aos leitos de areia, para correção do pH (TONON, 2011).

Para os testes de toxicidade em *V. fischeri*, os valores de salinidade devem ser considerados, uma vez o organismo-teste é de origem marinha. Por isso, anteriormente a preparação da amostra testada o ajuste osmótico foi realizado com solução de NaCl a 22%, pois os organismos apresentaram salinidade inferior a 20g L^{-1} , valor que solicita o ajuste osmótico para a realização do teste (CETESB, 2001).

No entanto, para o uso na agricultura, os valores encontrados excederam os valores máximos recomendados pela FAO (1994) e pela CETESB (2006), respectivamente 700 e $750\mu\text{S.m}^{-1}$, mas não ultrapassaram o limite máximo de $3000\mu\text{S.m}^{-1}$ (FAO, 1994), o que viabiliza a irrigação em solos bem drenados, com cultivo de espécies que tenham tolerância salina.

Como a salinização e sodificação do solo podem comprometer a saúde do solo e a produtividade da cultura, a salinidade da água de irrigação, bem como a salinidade do solo devem ser monitoradas frequentemente. Bastos e Marques (2003), em contribuição ao edital 3 do PROSAB (2003), ressaltam a importância em se atentar aos riscos de salinidade e respectivas consequências potenciais sobre solo e planta, para impedir que ocorra um aumento da salinidade no solo e consequente diminuição da produção vegetal (BALKS; BOND; SMITH, 2006).

Tabela 5.6- Média e Desvio Padrão dos Valores de Condutividade Elétrica mensurados durante o período de julho de 2010 a dezembro de 2011

	Efluente Bruto	Efluente Anaeróbio	Efluente Nitrificado
Condutividade ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	949,42 \pm 178,89	1055,83 \pm 126,85	880,65 \pm 204,40

5.1.5 Razão de Adsorção de Sódio (RAS)

Os valores da RAS dos efluentes utilizados no presente estudo foram monitorados durante o estudo de Marinho (2010) e Tonon (2011) e representam um dado importante na caracterização dos efluentes utilizados. A mensuração RAS tem significativa importância para avaliar a água utilizada para a irrigação, pois uma concentração de sais solúveis inadequada pode ser um fator limitante ao desenvolvimento de algumas culturas. O efeito destes sais sobre as características químicas e físicas de solos irrigados é de grande importância para manutenção da capacidade de produção agrícola (CORDEIRO, 2001), pois uma concentração salina elevada pode acarretar na diminuição da produtividade e em casos extremos, na esterilização dos solos (MELO et al., 2001).

RAS e salinidade devem ser analisadas conjuntamente para que se possa avaliar corretamente o efeito da água de irrigação na redução da capacidade de infiltração de um solo, pois essa capacidade cresce com o aumento de sua salinidade e decresce com o aumento da RAS e, ou, decréscimo de sua salinidade (SALASSIER, 1995).

A água de irrigação utilizada no presente estudo abrangeu a classe C3S1 (MARINHO, 2010) (Tabela 5.8). As águas classificadas como C3 são águas com alta salinidade, com conteúdo de sais de 700 a 2.250 μScm^{-1} , e sendo assim, não são recomendadas para uso em solos com drenagem deficiente. Mesmo com drenagem adequada, podem ser necessárias práticas especiais para controle de salinidade e só deve ser aplicada para irrigação de plantas tolerantes aos sais (USDA, 2006) (Figura 5.7). Dessa forma, a classificação indica que a água deve ser usada com cautela, pois necessita solos bem drenados para não acarretarem nenhum prejuízo. Mesmo apresentando o valor alto de C3 os efluentes apresentaram uma média de CE abaixo de 2900 μScm^{-1} (25°C), como recomendado pela Instrução Técnica número 31 da CETESB (2006). Vale salientar que efluentes que possuam valores entre 750 e 2900 μScm^{-1} somente podem ser utilizados para aplicação em solos bem drenados no cultivo de espécies com alta tolerância salina.

Com relação ao risco de sodificação (S1) a água mostra-se adequada para irrigação, na maioria dos solos, e apresenta pequena possibilidade de alcançar níveis perigosos de sódio trocável. Segundo a classificação, águas classificadas como S1 apresentam baixo teor de sódio, e dessa forma podem ser utilizadas para irrigação em quase todos os solos, com pouco perigo de desenvolvimento de problemas de sodificação.

Tabela 5.7- Média dos valores de Razão de Adsorção de Sódio (RAS) e Condutividade Elétrica (CE) dos efluentes: anaeróbio e nitrificado

	Efluente Anaeróbio	Efluente Nitrificado
RAS ($\text{meq}^{0,5} \text{L}^{-0,5}$)	3,09	2,93
CE (μScm^{-1})	1.055	880,85

Fonte: TONON, 2011 (Adaptado).

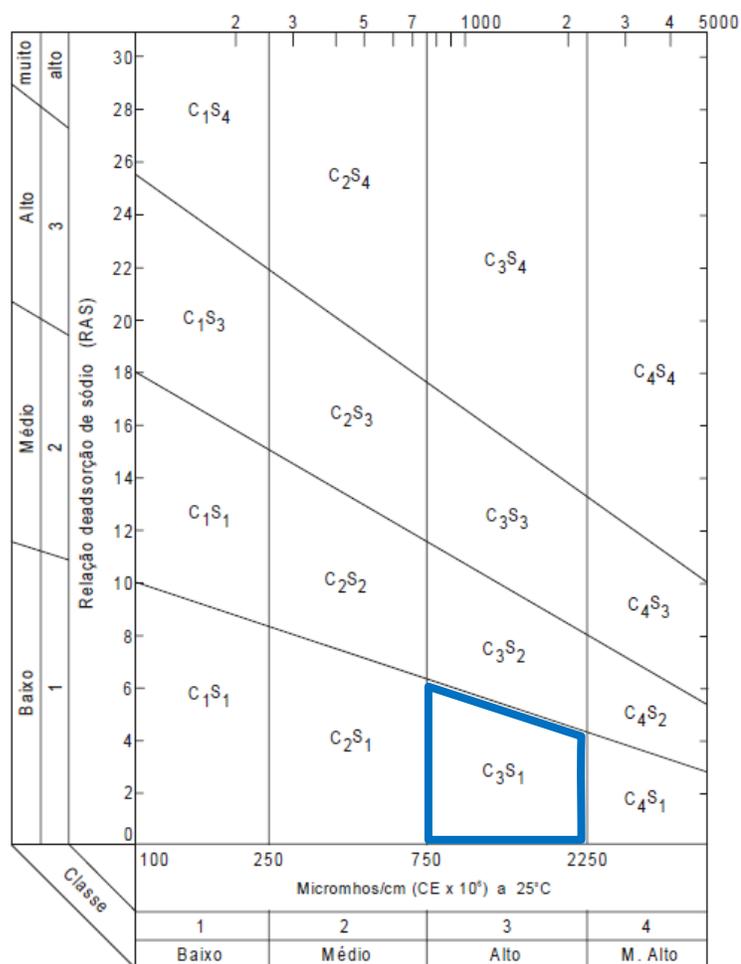


Figura 5.7- Classificação de águas para irrigação com destaque para a classificação da água utilizada no presente estudo. C= perigo da salinidade e S= perigo de sodificação. Fonte: USDA, 1954.

Tabela 5.8 - Relação entre RAS e CE para aplicação de efluente no solo (CETESB, 2006)

RAS	Condutividade Elétrica (dSm-1)	
	Mínima	Máxima
0 a 3	0,2	2,9
3 a 6	1,2	2,9
6 a 12	1,9	2,9

Apesar de ter diversos íons envolvidos no processo de salinização do solo, tais como ânions como bicarbonatos e carbonatos (OLIVEIRA; MAIA, 1998) o sódio é um dos principais a serem estudados. Por isso é importante que se relacione a RAS com a CE da solução do solo (VARALLO et al., 2010) para a avaliação dos perigos que a água oferece, respectivamente, em termos de indução de salinidade e aumento dos teores de sódio na solução do solo (OLIVEIRA; MAIA, 1998). Há de se considerar também as características físico-químicas do solo em questão bem como a tolerância da cultura a ser utilizada.

Tabela 5.9. Média dos valores de Razão de Adsorção de Sódio- RAS e Condutividade Elétrica - CE da solução de solo. Valores iniciais antes do cultivo das roseiras e 12 meses após o cultivo

	Efluente Anaeróbio	Efluente Nitrificado
RAS ($\text{meq}^{0,5} \text{ L}^{-0,5}$)	0,9	1,3
CE (dSm^{-1})	2,4	4,3

Fonte: Marinho, 2010. Adaptada

Segundo o monitoramento realizado por Marinho (2010) ocorreu um aumento de íons fósforo, potássio, cálcio, magnésio e sódio no solo após 12 meses de irrigação (Tabela 5.10). Esse aumento pode ser explicado pela própria prática da irrigação, pois a água pode atuar como fontes de sais, quando utilizada para a irrigação, ou seja, ela pode contribuir para a adição de sais ao solo. Somado a isso, deve-se considerar os sais solúveis constituídos principalmente pelos íons cálcio, magnésio, sódio, cloreto, sulfatos, bicarbonatos e, às vezes, de potássio e nitrato, dependendo do pH do meio. As proporções e concentrações destes íons na solução do solo variam tanto horizontal como verticalmente, tendo acentuada influência nesta distribuição a topografia, a textura do solo e as condições climáticas (AMARAL; TAVARES, 2006).

Tabela 5.10- Alterações químicas do solo em resposta aos tratamentos empregados na irrigação

	P (mg dm ⁻³)	K	Ca	Mg (mmolc dm ⁻³)	Na
Solo inicial	1,0	0,4	17	5,0	<0,1
Anaeróbio*	174,25	3,2	55,5	11,5	5,5
Nitrificado*	112,75	6,1	64,0	14,5	8,4

Fonte: MARINHO (2011). Adaptada

Nota: *após 12 meses de aplicação.

Segundo a análise estatística realizada por Marinho (2010), os tratamentos irrigados com efluente ocasionaram um aumento maior na concentração de sódio no solo de cultivo. Comparando-se esses valores médios dos tratamentos com o efluente nitrificado e os tratamentos irrigados com água houve um aumento de 60% na concentração de sódio no solo. Em relação aos canteiros irrigados com água, o aumento na concentração de sódio atingiu valores 45% maiores. Jnad e colaboradores (2001) também observaram um aumento na elevação de sódio no solo, em situações em que o teor inicial deste íon no efluente era alto (305mg L⁻¹) e no solo era baixo.

5.1.6 Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO₅ e Demanda Química de Oxigênio – DQO e Carbono Orgânico Dissolvido - COD

O efluente bruto, apesar de receber um aditivo hospitalar apresentou um valor médio de DBO₅ (20°C: máximo) correspondente à faixa característica de um efluente doméstico, entre 200 e 500 mgO₂L⁻¹ (VON SPERLING, 1996; KÜMMERER et al., 1999). A mesma semelhança foi descrita nos estudos de Kümmerer et al. (1999); Silvera (2004) e Tambosi (2008).

O valor médio da DBO₅ monitorado por Tonon (2011) durante o período da pesquisa foi de 385,4 ± 189,4 mgO₂L⁻¹ com remoção de 63% para o efluente anaeróbio e de aproximadamente 95 % após o tratamento nos filtros de areia (efluente nitrificado) em

relação ao bruto (Tabela 5.11). De acordo com o recomendado pela Resolução CONAMA 430/11, a DBO de 5 dias, (20°C: máximo) deve ser 120 mgL⁻¹, ou apresentar uma eficiência de remoção mínima de 60% de DBO, ou apresentar um valor adequado mediante estudo de autodepuração do corpo hídrico que comprove atendimento às metas do enquadramento do corpo receptor. Dessa forma, verifica-se que os efluentes tratados obedecem aos valores recomendados de remoção, mas apresentaram valor acima de 120 mgL⁻¹ para o efluente anaeróbio, segundo os valores resolvidos pela CONAMA 430/11, ao que se refere aos padrões de lançamento.

Segundo dados do monitoramento realizado por Tonon (2011), em relação aos valores médios obtidos para a DQO total (Tab 5.11), observa-se uma remoção média de 60,3% no efluente anaeróbio. Para o esgoto bruto, von Sperling (1996) recomenda para águas residuárias de origem doméstica que os valores de DQO devem estar entre a faixa de 400 a 800 mgO₂ L⁻¹, portanto, nesse trabalho, a DQO total apresentou-se por algumas vezes um pouco acima dessa faixa considerada ótima.

No entanto, o tratamento apresentou bons resultados, atingindo aproximadamente 90% de remoção para o efluente nitrificado. Assim, pode-se dizer que os filtros de areia retiveram a matéria orgânica suspensa nos poros de areia e também realizaram a degradação da matéria orgânica dissolvida (TONON, 2011).

Em relação aos valores do Carbono Total Dissolvido (COD), houve uma remoção de aproximadamente 59,9% do efluente bruto em relação ao efluente anaeróbio, valor próximo à porcentagem de remoção de DQO e DBO. Para o efluente nitrificado a remoção foi superior a 86% em relação ao efluente bruto, segundo dados obtidos por Tonon, (2011).

Tabela 5.11. Média e desvio padrão (σ) dos valores de remoção da matéria orgânica (DBO, DQO e COD) e porcentagem de eficiência, em relação ao efluente bruto

	DQO		DBO		COD	
	Média \pm σ	Remoção (%)	Média \pm σ	Remoção (%)	Média \pm σ	Remoção (%)
Anaeróbio	389 \pm 424,7	60,3	113,7 \pm 47	63	75,6 \pm 32,3	59,9
Nitrificado	54 \pm 32,8	91,8	12 \pm 10	95,7	19,2 \pm 14,1	86,4

Fonte: Tonon, 2011 (Adaptado).

5.1.7 Série de nitrogênio

O nitrogênio é considerado um elemento químico essencial às plantas vasculares, fazendo parte da composição de aminoácidos, proteínas, nucleotídeos, ácidos nucleicos, clorofilas e coenzimas. Como sua demanda é alta é considerado um macronutriente. Assim, sua deficiência pode ocasionar sintomas de deficiências ou anomalias de crescimento (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001), trazendo prejuízos consideráveis a produtividade de culturas.

O nitrato é a forma na qual quase todo o nitrogênio necessário é absorvido pela maioria das plantas vasculares terrestres. No entanto, deve-se atentar para que os níveis de nitrogênio disponibilizados não estejam em uma concentração que possa se tornar nociva ao solo e a cultura irrigada.

A matéria nitrogenada pode ter natureza orgânica, podendo ser inerte ou biodegradável, e inorgânica, representada pela amônia tanto em forma livre (NH_3) quanto ionizada (NH_4^+) (VON SPERLING, 1996).

No efluente bruto e no efluente anaeróbio Tonon (2011) notou que havia basicamente a presença de nitrogênio amoniacal e orgânico, enquanto que no efluente nitrificado observou-se a presença de nitrato e nitrito, formas mais oxidadas (Tabela 5.12).

Nos esgotos, a matéria nitrogenada pode aparecer na forma orgânica ou inorgânica (amônia, na forma livre e ionizada), sendo que nitrito e nitrato ocorrem em pequenas quantidades (VON SPERLING, 1996), uma vez que o esgoto doméstico não apresenta quantidade de oxigênio dissolvido suficiente à ação das bactérias nitrificantes (NAVAL; COUTO, 2005). Dessa forma, o efluente bruto do presente estudo, apesar de também receber efluente hospitalar, apresentou características domésticas para esses parâmetros.

Em relação ao Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), segundo Tonon (2011), a maior concentração de N-NTK no efluente anaeróbio pode ter sido devido ao desprendimento de biomassa dos reatores anaeróbios, com elevado teor de nitrogênio.

Segundo Von Sperling (2005) efluentes tipicamente domésticos apresentam uma faixa de concentração de 35 a 70mg L⁻¹ para o Nitrogênio Total, o que enquadra o efluente do presente estudo como tendo características domésticas para o parâmetro avaliado. No entanto, o limite sugerido pela WHO (2006) como não causador de problemas às culturas agrícolas é de 5 mgL⁻¹ para uso irrestrito e 30 mg L⁻¹ como limite máximo de restrição para uso agrícola. Dessa forma, faz-se necessário ou um tratamento para a desnitrificação para adequar o efluente para a aplicação na agricultura, uma vez que o sistema anaeróbio tem baixa remoção de nitrogênio e fósforo (CORAUCCI FILHO et al., 2001).

Nas amostras, Tonon (2011) observou que a maior parte da concentração de N-NTK é formada por nitrogênio amoniacal (N-NH₃), uma vez que durante a primeira parte do tratamento do efluente, o nitrogênio orgânico é transformado em amoniacal pela ação de bactérias. A concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃) foi maior no efluente anaeróbio que no efluente bruto. Nos filtros de areia (efluente nitrificado) ocorreu uma diminuição da concentração de nitrogênio amoniacal (TONON, 2011). Naval e Couto (2005) em estudo realizado com efluente proveniente de um filtro anaeróbio também observaram uma baixa eficiência de remoção do nitrogênio amoniacal, demonstrando que tratamentos anaeróbios são pouco eficientes para reduzir a concentração do nitrogênio amoniacal (CHERNICHARO, 2007).

Ademais, a maior concentração de nitrogênio amoniacal em comparação com nitrogênio orgânico pode ser explicada pelo processo bacteriano ter iniciado antes do efluente entrar no reator e, após passar pelo filtro anaeróbio, esta característica tende a aumentar visto que, durante o processo anaeróbio, ainda ocorre esta conversão (GERARDI, 2002).

Após a passagem do efluente pelos filtros de areia, Tonon (2011) observou que ocorreu a nitrificação nos leitos de areia. Principalmente após a implantação de um sistema de aeração superior, visto que a oxigenação do leito favorece o crescimento das bactérias nitrificantes o que resulta no aumento da transformação do nitrogênio orgânico e amoniacal em nitrato (BAHGAT et al., 1999). Segundo Tonon (2011), a solução seria aumentar a altura do leito de areia dos filtros, para que o efluente permaneça mais tempo em contato com as bactérias capazes de realizar a nitrificação ou, então, fazer com os filtros de areia trabalhem em série.

Com relação às concentrações de $N-NO_3^-$, a concentração no efluente bruto foi de $2,8 \pm 2,1 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto que para o efluente dos filtros anaeróbios foi de $1,1 \pm 2,7 \text{ mg L}^{-1}$. Já para as concentrações de nitrito ($N-NO_2^-$), tanto as concentrações para o esgoto bruto quanto para os filtros anaeróbios foram considerados abaixo do limite de detecção do aparelho (TONON, 2011) (Tabela 5.12).

Tabela 5.12 Médias e desvio padrão da concentração de Nitrogênio Amoniacal, Nitrogênio Orgânico, N – NTK, $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ no efluente bruto e nos tratados: anaeróbio e nitrificado

Parâmetro	Bruto (mg L^{-1})	Anaeróbio (mg L^{-1})	Nitrificado
Nitrogênio Amoniacal	$42,8 \pm 6,8$	$50,9 \pm 8,0$	$26,5 \pm 9,7$
Nitrogênio Orgânico	$5,5 \pm 5,6$	$2,6 \pm 3,0$	$0,6 \pm 1,4$
N – NTK	$48,3 \pm 14,4$	$53,5 \pm 13,5$	$27,1 \pm 10,1$
$N-NO_3^-$	$2,8 \pm 2,1$	$1,1 \pm 2,7$	$25,7 \pm 18,4$
$N-NO_2^-$	ND	ND	ND

Nota: $N-NO_3^-$ = nitrato; $N-NO_2^-$ = nitrito; ND= não detectável por estar em uma concentração muito baixa.

Fonte: Tonon, 2011 (Adaptado).

5.2 Análise de toxicidade em organismos-teste

Em relação aos parâmetros físico-químicos dos efluentes, apesar de receberem efluente hospitalar, todos apresentam características semelhantes a de efluentes domésticos, em analogia aos valores de DBO, DQO, metais e pH, como também observado por Kümmerer et al., 1999. No entanto, a presença de substâncias como drogas e desinfetantes apresentam-se em elevadas concentrações em efluentes hospitalares (KÜMMERER, et al. 1999) o que torna importante o estudo dos efeitos tóxicos em organismos-teste, mesmos que estas substâncias se encontrem em concentrações baixas.

Considerando isso, desejou-se inicialmente realizar um monitoramento mensal nos efluentes bruto e tratados, entretanto, a agenda do Laboratório de Saneamento da FEAGRI não permitiu esse delineamento e a ETE piloto não manteve um funcionamento regular, tendo que ser desligada algumas vezes para manutenção. Há de se considerar ainda que nos meses de férias escolares (julho, janeiro e fevereiro) o fluxo de pessoas na Universidade tem um número significativamente reduzido, o que reflete diretamente na quantidade e qualidade do efluente produzido, e no funcionamento da ETE piloto. Por isso, nesse período as coletas não foram realizadas.

5.2.1 Teste de Toxicidade Aguda em *V. fischeri*

5.2.1.1 Avaliação do organismo-teste

Para todos os testes de sensibilidade realizados, com solução de sulfato de zinco heptahidratado, a bactéria mostrou-se adequada, apresentando valores de CE50 dentro da faixa recomendada, de 3 a 10mg/L (CESTESB, 2001), segundo dados obtidos pelo Laboratório de Saneamento da FEAGRI (Figura 5.8).

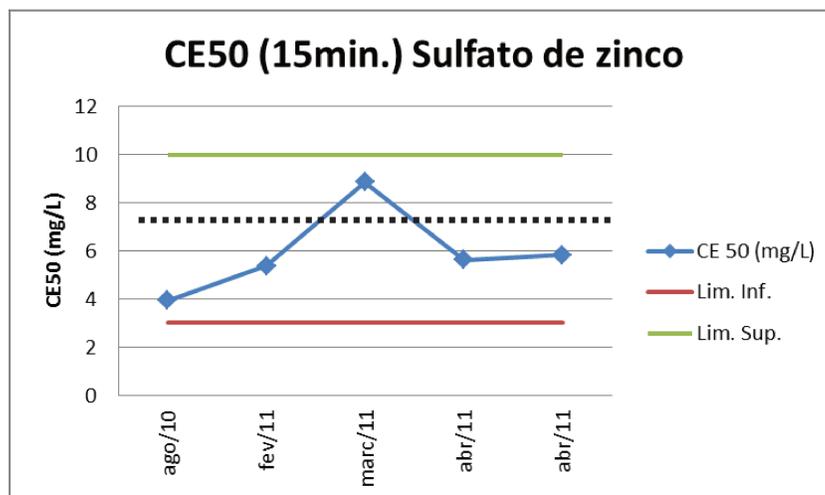


Figura 5.8 - Valores de CE50 dos testes de sensibilidade com Sulfato de zinco heptahidratado realizados no período do estudo. Dados do Laboratório de Saneamento da FEAGRI. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha tracejada indicando a média dos valores.

5.2.1.2 Avaliação das amostras

As amostras apresentaram valores de pH, CE e OD adequados ao organismo-testes, e o que permitiu a validação do teste. Segundo normatização da CETESB (2001) o pH deve estar dentro da faixa de 6,0 a 8,5 e o OD ser superior a $0,5\text{mgL}^{-1}$. Os valores de CE foram convertidos em salinidade, por se tratar de um organismo marinho. Os resultados demonstraram valores abaixo de 2%, o que exigiu a correção da salinidade com solução osmótica de NaCl a 22%, de acordo com o recomendado pela CETESB (2001) e pelo procedimento do sistema Microtox™.

Durante o estudo foram coletadas amostras do efluente bruto e dos tratados, das quais se obteve os valores de 15min-CE50, Fator de Confiança (95% FC), Unidade de Toxicidade (UT) e por fim a Porcentagem de Redução de Toxicidade em relação ao efluente bruto (%Red.Tox.) (Tabela 5.13), os quais foram gerados imediatamente após a realização do teste, por meio do Software acoplado ao Sistema Microtox™.

Para o efluente bruto, os valores da CE50 obtidos apresentaram uma variação considerável, sendo o menor valor obtido de CE50 igual a 0,0060, e o maior igual a 73,26%. Essa variação pode ser avaliada como normal, uma vez que o efluente bruto caracteriza-se por ser uma amostra complexa, com uma variação própria (NIETO, 2005; BAKOPOULOU; EMMANOUIL; KUNGOLOS, 2011)

A alta toxicidade encontrada na amostra de menor valor de CE50 apresentou um fator de confiança mais elevado (95%FC= 11,92). Segundo a CETESB (2001) recomenda-se que o valor do Fator de Confiança do teste seja menor ou igual a 15 (95% FC \leq 15), entretanto, esse valor alto pode ter sido devido ao local da coleta, pois a ETE piloto estava com problemas de bombeamento e o efluente bruto foi coletado diretamente na entrada do sistema, após o gradeamento, o que pode justificar o elevado efeito tóxico da amostra.

Em relação aos efluentes tratados, o efluente anaeróbio foi o que apresentou um efeito tóxico maior, em relação ao efluente nitrificado, apresentando valores de CE50 menores que 5,02% (UT > 19). Houve apenas uma exceção, para o teste realizado em agosto de 2010, que apresentou um valor de CE50 extrapolado. Como o fator de confiança do referido teste apresentou-se acima do recomendado: 95%FC>15 (15,77) esse resultado não foi considerado válido.

A toxicidade mais elevada do efluente anaeróbio, em relação ao nitrificado, pode ser justificada pela própria etapa do tratamento do efluente, uma vez que a matéria orgânica é mais elevada, e o nível de oxigênio dissolvido, apesar de estar dentro do recomendado para validação do teste, é mais baixo. Além disso, pode ocorrer a formação de subprodutos que atuem no metabolismo dos organismos-testes inibindo a produção de luminescência.

Apesar desta etapa do tratamento ter apresentado uma redução nos valores de DBO e COD (Tabela 5.11), o efeito tóxico nos organismos foi observado e não pode ser desconsiderado. A mesma relação foi encontrada por Nieto et al. (2005) e Rodrigues e Umbuzeiro (2011). Por isso, os autores relataram a importância de se realizar testes com

organismos para complementar a avaliação da eficiência do tratamento, e consideraram o *V. fischeri* um organismo com sensibilidade adequada.

Ademais, em se tratando de um efluente hospitalar, a remoção de microcontaminantes, como produtos farmacêuticos e produtos de cuidados pessoais (PCPs), em águas residuais muitas vezes não ocorre em tratamento convencional (SEDLAK; GRAY; PINKSTON, 2000), o que não é avaliado quando se mensura os valores de DBO e COD.

No entanto, Kümmerer (2009) alertou para a importância em se considerar o tempo de exposição, pois testes de toxicidade aguda em bactérias podem subestimar a avaliação da toxicidade para antibióticos, uma vez que os efeitos adversos relacionam-se com um maior tempo de exposição. Por isso, os resultados dos testes com *V. fischeri* devem ser analisados com cautela, considerando a natureza do efluente e a dificuldade da inativação de fármacos, antibióticos e desinfetantes em processos de tratamento convencionais (AGA, 2008).

O efluente nitrificado apresentou-se como uma amostra mais estável, o que já era esperado, uma vez que é a etapa final do tratamento do efluente. Apresentou valores de CE50 superiores a 78% (UT<5), sendo que para as outras amostras os valores foram superiores a 81,9%, porcentagem máxima da concentração da amostra.

Em relação a remoção de toxicidade, em relação ao efluente bruto, o nitrificado foi o que apresentou uma maior porcentagem de remoção de toxicidade, superior a 89% para todas as amostras tendo atingindo 99,99% de remoção.

Para o anaeróbio a remoção de toxicidade foi baixa (1,79%) ou ainda apresentou um valor negativo, indicando um aumento de toxicidade, apesar da redução de DBO, DQO e COD ter sido superior a 60%. Estudos demonstram que parâmetros como COT (ou COD), muitas vezes usados como padrão de eficiência de tratamento, nem sempre indicam baixa toxicidade, o que sugerem a complementação com testes de toxicidade em *V. fischeri* (NIETO, 2001; ARAÚJO et al., 2005; RODRIGUES; UMBUZEIRO, 2011) . Dessa forma,

pode ter ocorrido uma degradação de moléculas complexas em mais simples que contribuíram para um aumento da toxicidade.

Tabela 5.13 Valores CE50 (%) e 95% de Fator de Confiança (95% FC); Unidade de Toxicidade (UT) dos efluentes Bruto e tratados: Anaeróbio e Nitrificado e % de Redução de toxicidade em relação ao efluente bruto, obtidos por meio do teste de toxicidade aguda em *V. fischeri* utilizando o sistema Microtox™

Ef. Bruto					
Coleta	Data	15min-CE50 (%)	95% FC	UT	
1	ago/2010	8,237	1,609	12,14	(9,31- 5,83)
2	ago/2010	12,121	1,810	8,243	(5,825 - 11,67)
3	nov/2010	3,315	1,167	30,16	(28,19 - 32,27)
4	nov/2010	73,26	1,065	1,365	(1,266 - 1,472)
5	mar/2011	0,0060	11,92	16613	(9262- 29798)
6	out/2011	4,820	1,437	20,73	(16,10 - 26,69)
7	nov/2011	12,62	1,148	7,922	(6,869 - 9,137)

Ef. Anaeróbio						
Coleta	Data	15min-CE50 (%)	95% FC	UT	%Red.Tox.	
1	ago/2010	920,81	15,77	0,108	(0,0004-32,24)	98,68 %
3	nov/2010	3,37	1,824	29,62	(22,55-38,89)	1,79 %
5	mar/2011	Fator de confiança inválido ¹				
6	out/2011	2,58	1,162	38,71	(37,38 - 40,08)	-86,73 %
7	nov/2011	5,02	1,981	19,91	(10,19 - 38,89)	-151,325

Ef. Nitrificado						
Coleta	Data	15min-CE50 (%)	95% FC	UT	%Red.Tox.	
2	ago/2010	78,18	1,310	1,279	(0,8172- 2,003)	89,46 %
3	nov/2010	825,76	4,211	0,121	(0,0041- 3,58)	91,12 %
5	mar/2011	618,0	3,245	0,162	(0,0528-0,496)	99,99 %
6	out/2011	1126,00	4,102	0,089	(0,0332-0,237)	99,57 %
7	nov/2011	239,2	1,356	0,418	(0,312 - 0,559)	94,72 %

15min- CE50: concentração da amostra que provoca um efeito tóxico agudo em 50% dos organismos expostos em 15 minutos de exposição 95% FC: Fator de Confiança (<15); UT: unidade de toxicidade; %Red.Tox: % de Redução de Toxicidade em relação ao efluente bruto.

5.2.2 Teste de toxicidade Aguda em *D. similis*

5.2.2.1 Avaliação do organismo-teste

Os resultados obtidos em todos os testes de sensibilidade, realizados com solução de NaCl como substância de referência, demonstraram uma sensibilidade adequada dos organismos (ABNT, 2009) (Figuras 5.9; 5.10), o que permitiu a validação de todos os testes realizados com as amostras.

Os resultados obtidos foram tabelados para controle de dados do laboratório, e os valores encontraram-se de acordo com o recomendado pela ABNT (2009), assim como os parâmetros físico-químicos da água de cultivo para o Laboratório de Saneamento, FEAGRI (Tabela 5.14; Figura 5.9) e para o LABPRO, da FEC (Tabela 5.15; Figura 5.10).

Tabela 5.14 Médias dos parâmetros físicos da água de cultivo do Laboratório de Saneamento da FEAGRI, quando foi realizado o teste de sensibilidade em *D. similis*

Parâmetros	pH	OD	Dureza	Condutividade
Água de Cultivo	7,99	5,6 mgL ⁻¹	45 CaCO ₃ L ⁻¹	236 µScm ⁻¹

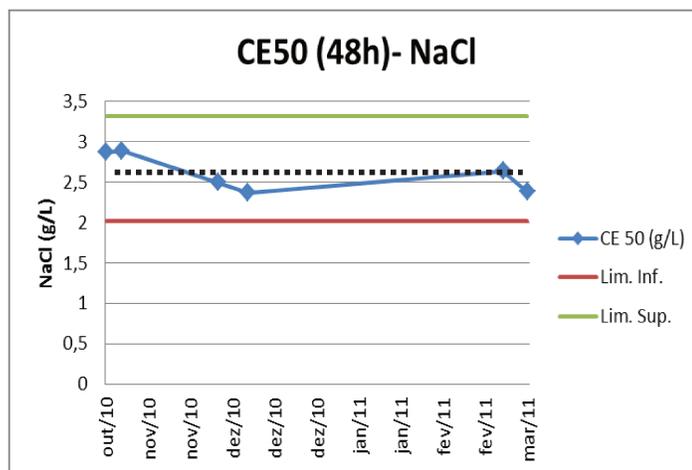


Figura 5.9 Valores de CE50 dos testes de sensibilidade com NaCl realizados no período do estudo. Dados do Laboratório de Saneamento, FEAGRI. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha tracejada indicando a média dos valores.

Tabela 5.15. Médias dos parâmetros físicos da água de Cultivo do Laboratório LABPRO, FEC, quando foi realizado o teste de sensibilidade em *D. similis*

Parâmetros	pH	OD	Dureza	Condutividade
Água de Cultivo	6,7	6,6 mgL ⁻¹	45 CaCO ₃ L ⁻¹	224 μScm ⁻¹

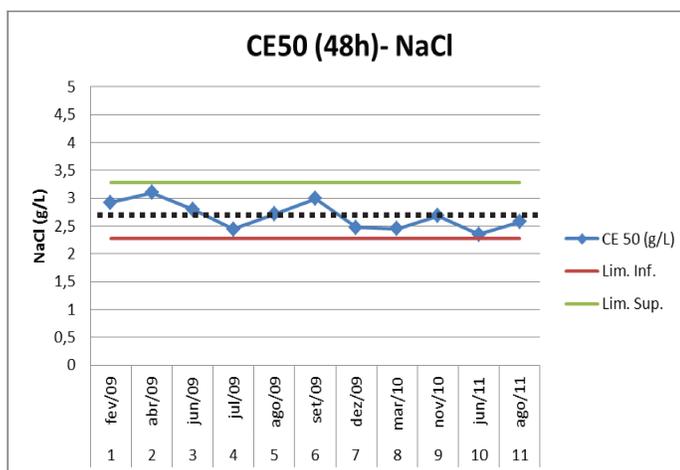


Figura 5.10. Valores de CE50 dos testes de sensibilidade com NaCl realizados no período do estudo. Dados do Laboratório LABPRO, FEC. Lim. Inf.= -2.desvio-padrão; Lim. Sup.= +2.desvio-padrão. Linha tracejada indicando a média dos valores.

5.2.2.2 Avaliação das amostras

Os testes de toxicidade aguda em *D. similis* foram realizados num primeiro momento no laboratório de Saneamento da FEAGRI, e num segundo momento no Laboratório de Saneamento da FEC, utilizando o mesmo procedimento. Ambos os laboratórios cultivaram organismos de mesma origem e utilizaram os mesmos padrões de cultivos dos organismos (ABNT, 2009), o que foi essencial para manter a consistência e reprodutibilidade dos testes realizados. Além disso, os testes de sensibilidade demonstraram a mesma faixa de sensibilidade. Dessa forma, os resultados obtidos em um ou outro laboratório podem ser considerados consistentes.

Foi observada uma variação dos valores de CE50 para o efluente bruto, do mesmo modo que ocorreu para os testes em *V. fischeri*, que pode ser justificado pela inconstância de sua composição. A amostra com maior efeito tóxico apresentou um valor de CE50 de 20,50% (UT=4,88) e a com menor efeito tóxico um valor de CE50 de 76,75% (UT= 1,30). Três amostras não causaram efeito tóxico a nenhum organismo exposto, enquanto em duas, o efeito tóxico foi observado em todos os organismos expostos para todas as concentrações.

Em se tratando de um efluente bruto, a elevada concentração orgânica pode conter inúmeros contaminantes com potencial tóxico aos organismos expostos. No entanto, o curto período de exposição (48h) pode não ter sido suficiente para causar o efeito imobilidade nas daphnias. Estudos relacionam o efeito de alguns compostos tóxicos a danos reprodutivos para esses microcrustáceos, que só podem ser mensurados em testes crônicos (WOLLENBERGER et al., 2000).

Bakopoulou; Emmanouli e Kungolos (2011) correlacionaram o efeito tóxico em daphnias com o aumento da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD), uma vez que a matéria orgânica pode conter compostos fenólicos voláteis que causam efeito tóxico aos microcrustáceos. Os autores relacionaram a toxicidade com concentrações de ácido gálico,

um subproduto da destilação da fabricação de grapa (bebida alcoólica a base de uva). Como o ácido gálico é também utilizado na indústria farmacêutica para síntese de fármacos, pode estar presente em efluentes de origem hospitalar, como encontrado no estudo de Silva; Tavares; Abreu; (2009) que também detectaram a presença de compostos fenólicos em efluente hospitalar, tendo em vista que vários produtos farmacêuticos apresentam esta molécula na sua estrutura. Isidori et al. (2004) observaram uma redução de 83% de toxicidade em crustáceos quando houve redução da concentração de 67% de fenóis totais no tratamento do efluente de uma indústria de azeite de oliva por meio de reatores biológicos aeróbios inoculados com culturas mistas de leveduras.

Em estudo realizado por Okamura e colaboradores (1999) não foi possível concluir que a toxicidade observada para *Daphnia* resultou de uma única substância, pois a toxicidade das substâncias detectadas foi relativamente fraca para *Daphnia magna*. Isso indica que provavelmente houve um efeito sinérgico das substâncias detectadas. Em segundo lugar, substâncias que ocorrem naturalmente como matéria orgânica dissolvida pode atuar sinérgicamente com traços de produtos químicos na água e assim reforçar possíveis efeitos tóxicos (CARY; McMAHON; KUC, 1987; LEE et al, 1993).

O efluente anaeróbio foi a amostra que apresentou maior dificuldade na determinação do valor da CE50. Isso pode ser ocasionado ao teor de matéria orgânica ainda presente nesta etapa do tratamento, que pode conter possíveis contaminantes com potencial aditivo (OKAMURA et al., 1999).

O efluente nitrificado foi o que apresentou o maior número de amostras com determinação da CE50, o que pode ser explicado pelo fato do efluente ser o resultado final de tratamento, ou seja, mais estabilizado, em relação ao efluente bruto e ao anaeróbio.

Segundo a APHA-AWWA-WEF (1998), apesar da aplicação e interpretação dos testes de toxicidade em programas de gestão de qualidade aparentar ser mais difíceis que a dos testes físico-químicos, eles oferecem algumas vantagens: os testes de toxicidade abordam diretamente a biodisponibilidade e interação complexa dos químicos presentes nas amostras.

Ademais, produzem uma mensuração única e integrada da resposta dos organismos a uma amostra ambiental complexa, além de apresentarem um custo reduzido e uma facilidade de interpretação maior que a de uma série de medidas químicas.

Dessa forma, fica clara a valiosa contribuição que os testes de toxicidade proporcionam, principalmente por permitirem a avaliação da resposta do organismo exposto em amostras complexas, e não à apenas uma substância. No entanto, muitas vezes não é possível estabelecer estatisticamente o resultado em relação ao efeito pré-determinado, como foi observado no presente estudo. Uma revisão dos últimos 248 testes de toxicidade aguda em efluentes realizada pela divisão de serviços ambientais da USEPA demonstrou que em apenas 2% dos testes realizados foi possível determinar a LC50 em apenas uma concentração do teste. Na maioria das amostras testadas (54%) ocorreu uma mortalidade parcial em uma concentração, ou mais de uma mortalidade parcial (16%).

Mesmo com a utilização de programa estatístico, como o Trimmed Spearman-Kärber Method, um teste não paramétrico, algumas vezes o software pode não fornecer intervalos de confiança associados ao intervalo de 95%. Por isso é importante expressar juntamente com os resultados o valor deste intervalo de confiança (95%FC). Esta situação pode surgir quando os dados de teste não atendem os pressupostos específicos exigidos pelos métodos estatísticos, quando estimativas pontuais estão fora da faixa de concentração de teste e quando limitações específicas impostas pelo software são encontradas (USEPA, 2007).

Entretanto, mesmo quando não se pôde determinar o valor da CE50, foi possível verificar uma diminuição do efeito tóxico a medida que a concentração da amostra apresentava-se mais diluída. Isso sugere que, apesar da inexistência estatística da CE50, houve uma redução do efeito tóxico dos efluentes para os organismos expostos (ANEXO A, Tabela 1).

Em relação a redução de toxicidade dos efluentes tratados em relação ao bruto, houve um aumento nos valores de CE50 para ambos os tratamentos, o que indica uma redução de toxicidade.

Tabela 5.16- Valores CE50 (%) e Fator de Confiança (95% FC); Unidade de Toxicidade (UT) dos efluentes Bruto e tratados: Anaeróbio e Nitrificado e % de Redução de toxicidade em relação ao efluente bruto, obtidos por meio do teste de toxicidade aguda em *D. similis*
(Continua)

Ef. Bruto					
Coleta	Data	15min-CE50(%)	95% FC	UT	
1	01/07/2010	34,50	25,36-46,96	2,89	
2	09/07/2010	20.50	17,93-22,99	4,88	
4	01/09/2010	TT	NC	TT	
5	07/11/2010	NT	NC	1	
7	26/11/2010	33.97	29,61-38,97	2,94	
9	31/03/2011	76.75	72,18-81,62	1,30	
10	07/10/2011	NT	NC	1	
11	13/10/2011	NT	NC	1	
12	24/11/2011	TT	NC	TT	
Ef. Anaeróbio					
Coleta		15min-CE50 (%)	95% FC	UT	%Red.Tox.
1	01/07/2010	NT	NC	1	NC
2	09/07/2010	NT	NC	1	NC
3	31/08/2010	NT	NC	1	NC
6	11/11/2010	NT	NC	1	NC
7	26/11/2010	97,93	(90.00-106,55)	1,021	NC
8	25/03/2011	NT	NC	1	NC
9	31/03/2011	94.09	(88,38-100,17)	1,06	63,89
10	07/10/2011	NT	NC	1,02	NC
11	13/10/2011	NT	NC	1	NC
13	01/12/2011	82.45	(79,21-85,81)	1,21	NC

Tabela 5.16- Valores CE50 (%) e Fator de Confiança (95% FC); Unidade de Toxicidade (UT) dos efluentes Bruto e tratados: Anaeróbio e Nitrificado e % de Redução de toxicidade em relação ao efluente bruto, obtidos por meio do teste de toxicidade aguda em *D. similis* (Conclusão)

Coleta		Ef. Nitrificado			%Red.Tox.
		15min-CE50 (%)	95% FC	UT	
1	01/07/2010	NT	NC	1	NC
2	09/07/2010	NT	NC	1	NC
3	31/08/2010	61.40	(55.14-68.37)	1,64	NC
5	07/11/2010	90,48	(85,49- 95,7)	1,10	NC
6	11/11/2010	74.09	(71,72-76,55)	1,35	NC
7	26/11/2010	95.58	(91,36-100,01)	1,05	NC
8	25/03/2011	71.65	(68,45-75,01)	1,39	52,58
9	31/03/2011	73.64	(71,21-76,16)	1,36	NC
10	07/10/2011	NT	NC	1	NC
11	13/10/2011	NT	NC	1	NC
12	24/11/2011	NT	NC	1	NC
13	01/12/2011	NT	NC	1	NC

Nota: Para efeito do cálculo da UT, quando não foi observado efeito tóxico considerou-se o valor da CE50=100, e o valor da UT=1. NT-considerado não tóxico por não causar efeito de imobilidade em 100% da amostra; NC= não calculável. TT= amostras que causaram efeito de imobilidade em todos os organismos expostos

5.2.3 Bioensaio com *A. cepa*

Na avaliação do potencial tóxico, apenas o efluente bruto apresentou uma redução significativa no índice de germinação (IG) ($p < 0,05$), quando comparado aos valores obtidos no controle negativo (CN) (Tabela 5.17).

Tabela 5.17 – Média e desvio padrão dos valores obtidos para o índice de germinação (IG) de sementes de *Allium cepa*, após a exposição à água ultrapura (controle negativo), ao MMS e à trifluralina (controles positivo) e aos efluentes bruto e tratados: anaeróbio e nitrificado

	Tratamento	IG
Controles	CN	80,34±8.62
	MMS	71,67±16,78
	TRIF	31,67±13,62*
Amostras	Bruto	42,0±7,0*
	Anaeróbio	60,67±14,01**
	Nitrificado	67,0±6,24

Notas: CN: controle negativo; MMS: controle positivo; TRIF: Trifluralina, controle positivo; *valores estatisticamente significativos, em relação ao controle negativo, pelo método estatístico de Mann-Whitney, com $p < 0,05$. ** valores estatisticamente significativos, em relação ao bruto, pelo método estatístico de Mann-Whitney, com $p < 0,05$.

A redução germinativa pode estar relacionada tanto com compostos tóxicos presentes no efluente bruto, como com a elevada concentração de matéria orgânica. Em contrapartida, a redução não significativa observada nos efluentes tratados podem indicar uma eficiência no processo de tratamento do efluente.

Entre os efluentes tratados, foi observado que somente o nitrificado apresentou aumento significativo para os valores do IG ($p < 0,05$) em relação ao efluente bruto, o que pode indicar um menor efeito tóxico para este efluente. Além disso, a elevada concentração de matéria orgânica do efluente anaeróbio pode ter contribuído para um menor índice de

germinação, uma vez que a elevada concentração de matéria orgânica pode conter uma maior presença de contaminantes. No entanto, a avaliação do presente resultado deve ser feita com cautela uma vez que podem ocorrer variações tanto no efluente bruto quanto no processo do tratamento.

Em relação ao índice mitótico (IM), observou-se um aumento estatisticamente significativo em relação ao controle negativo, para o efluente bruto (Tabela 5.18). Um aumento ou uma diminuição do IM, segundo Caritá e Marin-Morales (2008) pode ser um indicador adequado dos níveis de contaminantes presentes nas amostras. No entanto, quando ocorre um aumento do IM, ele pode não ser benéfico, uma vez que pode contribuir para a formação de neoplasias devido a proliferação aumentada das células (MATSUMOTO, 2004), o que deve ser considerado principalmente pela natureza hospitalar do efluente. Apesar de o efluente apresentar características físico-químicas equivalentes a de um efluente doméstico há de se considerar a possível presença de compostos xenobióticos em sua composição (BAGATINI et al., 2009).

Apesar de Grisola e colaboradores (2005), também constatarem um aumento do IM em estudo que avaliou um efluente doméstico, Bagatini et al., (2009) observaram uma inibição mitótica. Assim, nota-se que efluentes de origem hospitalar podem apresentar diferentes comportamentos, dependendo principalmente dos fármacos e produtos utilizados (AKINTONWA, 2009).

Ademais, a presença de nitrogênio nos efluentes (Tabela 5.12) pode ter contribuído para o aumento do IM nos efluentes, em relação ao CN, visto que dejetos ricos em nitrogênio podem estimular a mitose (AMARAL et al., 2007).

Na avaliação do potencial genotóxico, as células portadoras aberrações cromossômicas foram contabilizadas (Tabela 5.18) e os dados obtidos demonstraram que ambos os efluentes tratados apresentaram valores estatisticamente significativos. As anormalidades mais observadas foram: broto nuclear (Figura 5.11 D e G), C-metáfase (Figura

5.11 F), metáfase com aderência (Figura 5.11 C e I) e anáfase com ponte cromossômica (Figura 5.11 E e H).

Níveis significativos de aberrações cromossômicas também foram encontrados por Grover e Kaur (1999), na avaliação de um efluente doméstico e industrial e por Bagatini et al., (2009) em efluente hospitalar. Bagatini et al. (2009) relacionaram a ocorrência de pontes cromossômicas e de *endpoints* que indicam mutagenicidades, como quebras cromossômicas e células micronucleadas com a presença de compostos tóxicos presentes no efluente hospitalar.

Tabela 5.18 – Porcentagem do índice mitótico (IM) obtido, média e desvio padrão dos índices de aberrações cromossômicas (IAC) e do índice de mutagenicidade (IMt) em células meristemáticas de *Allium cepa*, após a exposição à água ultrapura (controle negativo), ao MMS e à trifluralina (controles positivo) e aos efluentes bruto e tratados: anaeróbio e nitrificado

	Tratamento	IM (%)	IAC	IMt
Controles	CN	34,87	1,6± 1,94	0
	MMS	31,53	3,8±1,64*	34,8±25,46*
	TRIF	45,76	9,2±2,04**	1,8±1,3*
Amostras	Bruto	67,26*	4,6±2,3	0,8±0,8
	Anaeróbio	51,35	4,6±1,51*	2,2±2,4
	Nitrificado	45,17	4,6±0,89*	0

Nota: **CN:** controle negativo; **MMS:** controle positivo; **TRIF:** controle positivo; e tratamentos: * valores estatisticamente significativos, em relação ao controle negativo, CN, pelo método estatístico de Mann-Whitney, com $p < 0,05$.

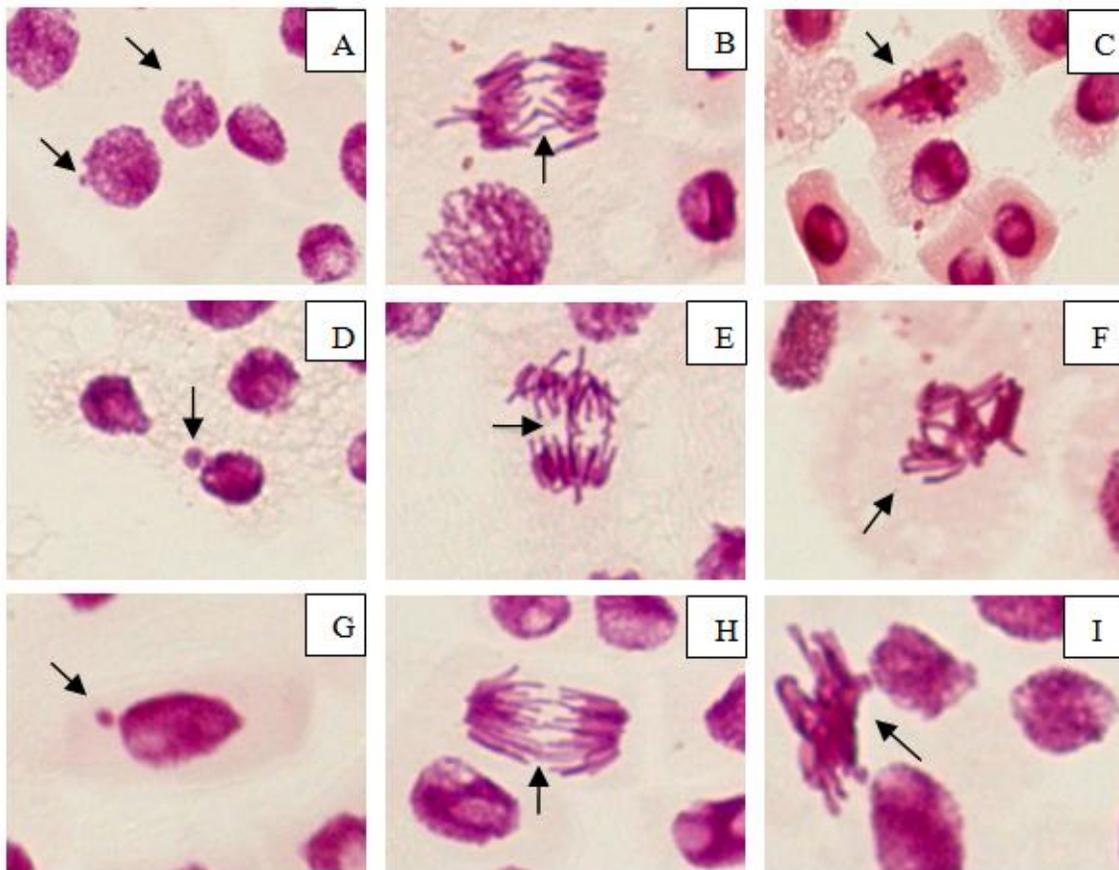


Figura 5.11- Aberrações cromossômicas obtidas pelo sistema-teste de *Allium cepa* expostos em Efluente Bruto (A,B,C), e tratados: anaeróbio (D,E,F) e nitrificado (G,H,I). Setas apontando para: broto nuclear (A, D, G), ponte cromossômica (B, E, H), C-metáfase (F) e aderência cromossômica (C, I).

Contudo, as aberrações cromossômicas observadas merecem atenção, uma vez que células portadoras de C-metáfase e aderência cromossômica podem decorrer em outros danos celulares, inviabilizando a célula (TÜRKOGLU, 2008). Alterações como pontes cromossômicas podem também posteriormente contribuir para a indução de perdas cromossômicas (GÖMÜRGEN, 2005).

Nos testes conduzidos com células meristemáticas de *A. cepa* não foram observadas quebras cromossômicas em nenhum dos tratamentos avaliados. Células micronucleadas foram

observadas e contabilizadas conjuntamente para a avaliação do potencial mutagênico; no entanto, este *endpoint* não foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$) para os tratamentos.

Assim, pode-se dizer que os efluentes apresentaram potencial genotóxico, uma vez que induziram a formação de aberrações cromossômicas, entretanto, esses danos não decorreram em mutagenicidade, pois os valores obtidos para quebras e micronúcleos não foram estatisticamente significativos.

Efluentes hospitalares são considerados fontes conhecidas de vários produtos químicos, resíduos de remédios, desinfetantes e medicamentos antineoplásicos, considerados potencialmente tóxicos, podendo conter contaminantes com potencial carcinogênico e mutagênico (DION; BRUCE, 1983; REDDY et al., 1985; HARTMANN; ALDER; KOLLER, 1998). Considerando esse contexto, fica clara a importância da utilização de um representante vegetal para a avaliação da toxicidade de efluentes, ainda mais quando o objetivo do tratamento é a agricultura.

6. Conclusão

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que:

- O reúso da água para fins agrícolas consiste em uma alternativa adequada na economia de água;
- A implantação de um sistema de tratamento de efluente que vise o reúso agrícola deve traçar um planejamento adequado, que considere aspectos sanitários, agrícolas, ambientais, econômicos e legais;
- Análises ecotoxicológicas devem ser realizadas como forma de se obter uma avaliação dos efeitos tóxicos, mesmo quando análises físico-químicas demonstrarem uma eficiência na remoção da matéria orgânica;
- Os organismos utilizados nos testes de toxicidade apresentaram uma sensibilidade adequada nas amostras estudadas, uma vez que foi possível avaliar o efeito causado. Além disso, a escolha dos organismos apresentou-se coerente com os objetivos do presente estudo, pois permitiu a avaliação dos efeitos tóxicos em representantes de diferentes níveis tróficos;

- Em relação aos testes de toxicidade com *V. fischeri* e *D. similis*, o sistema de tratamento de esgoto apresentou maior eficiência de remoção de toxicidade para o efluente nitrificado que para o efluente anaeróbio, em relação ao bruto;

- Os testes de aberrações cromossômicas em células meristemáticas de *A. cepa* mostraram-se adequados para a avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos dos efluentes, uma vez que foi possível verificar os efeitos tóxicos em um representante vegetal.

7. Recomendações

- Tendo em vista a importância do reúso agrícola, recomenda-se que sua realização ocorra de forma planejada, de modo a minimizar possíveis impactos negativos tanto para cultura irrigada, quanto para o solo e lençol freático;

- Por isso, recomenda-se a continuidade de estudos que avaliem os aspectos toxicológicos do sistema solo-planta, bem como da solução de solo. Sugere-se, que a avaliação da solução do solo seja realizada em diferentes profundidades para avaliação do comportamento do efluente no perfil do solo. Aconselha-se ainda que sejam realizados testes de toxicidade crônica para um monitoramento do potencial tóxico a longo prazo;

- Por fim, recomenda-se que o uso de efluente hospitalar seja utilizado com cautela na agricultura, tendo em vista que fármacos, hormônios e produtos de cuidado pessoal, mesmo em baixas concentrações, podem ocasionar uma contaminação no solo e na cultura irrigada. Além disso, para esse tipo de efluente, recomenda-se um tratamento específico, que objetive inativar seus componentes tóxicos.

8. Referências

ADIN, A. Physiochemico mechanisms in treatment processes for water reuse. In: ASANO T (Ed) **Wastewater reclamation and reuse**. Lancaster: Ed.Technomic Publishing Company, 1998, p. 159-218.

AGA, D. (Ed.) **Fate of Pharmaceuticals in the Environment and in Water Treatment Systems**. Boca Raton: CRC Press, 2008 - 391 p.

AKINTONWA, A. et al. Assessment of the mutagenicity of some pharmaceutical effluents. **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.4, n.4, p.144-147, 2009.

ALLISON, L.E. La salinidad y su relacion con el riego. Centro Regional de Ajuda Técnica, **Adelantos em Agronomia**, México, v. 16, 1966.

AMARAL, A., M. et al. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxixidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP-Brasil) através do teste Allium (*Allium cepa*). **Revista Brasileira de Toxicologia**, São Paulo. v. 20, n. 1 e 2, p. 65-72, 2007.

AMARAL, F. C. S.; TAVARES **Alterações físico-químicas em um argissolo sob irrigação no perímetro Nilo Coelho, Município de Petrolina – PE** – Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. Disponível em: <<http://www.cnps.embrapa.br/solosbr>>. Acesso em: 9 dez. 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21th ed. Washington DC, 2005.

AMORÓS, I. et al. An assessment of the toxicity of some pesticides and their metabolites affecting a natural aquatic environment using the Microtox™™ system **Water Science & Technology**, Oxford, v.42 , p.19-24; 2000.

ANDA–ASSOCIAÇÃO NACIONAL PARA DIFUSÃO DE ADUBOS. Disponível em: <<http://www.anda.org.br/home.aspx>>. Acesso: jun 2012.

ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos. In: ZAGATTO P. A.; BERTOLETTI E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática Princípios e Aplicações**. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p.117-152.

ARAÚJO, C.V. M. et al. The use of Microtox® to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil). **Chemosphere**, Oxford. v. 58, p.1277–1281, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS: **NBR 12713: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda- Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Crustacea, Cladocera)**. São Paulo, 2009, 23p.

_____: **NBR 13969: Tanques sépticos - Unidades de tratamento complementar e disposição final dos efluentes líquidos - Projeto, construção e operação**. São Paulo, 1997.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL (ABES). Reúso da Água. **Revista DAE**, SABESP, São Paulo, n.167, set/out 1992, p. 24-32.

AYERS, R. S.; WESTCOT, D. W. **A qualidade da água na agricultura**. Trad. GHEYI, W. R.; MEDEIROS, J. F., DAMASCENO, F. A. V. Campina Grande: UFPB, 1991, 218 p. (estudos da FAO: Irrigation and Drainage Paper, 29 revisado 1).

BACKHAUS, T; GRIMME L.H. The toxicity of antibiotic agents to the luminescencbacterium *Vibrio fischeri* **Chemosphere**, Oxford, v. 38, N. 14, p. 3291-3301, 1999.

BAGATINI, M. D. et al. Biomonitoring Hospital Effluents by the Allium cepa L. Test. **Bull Environ Contam Toxicol**, New York. v. 82, p.590–592, 2009.

BAHGAT, M., DEWEDAR, A. E ZAYED A. **Sand filter used for wastewater treatment: build-up and distribution of microorganisms**. Water Research, New York, v. 8, n. 33, pp. 1949–1955, 1999.

BALKS, M.R.; BOND, W.J.; SMITH, C.J. Effects of sodium accumulation on soil physical properties under an effluent-irrigated plantation. **Australian Journal of Soil Research**, v.36, p.821-830, 1998

BASTOS, R. K. X. et al. Utilização de Esgotos Tratados em Fertirrigação, Hidroponia e Piscicultura. In: BASTOS R. K. X. (Coord.). **Disposição no solo como método de tratamento, reciclagem ou destino final de esgotos sanitários**. PROSAB. São Carlos: Ed. Rima, 2003. p. 274-253.

BERTOLETTI, E. GHERARD-GOLDSTEIN, E.; NIPPER, M. G. Toxicidade de efluentes industriais na Grande São Paulo. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 42, p. 217-277, 1989.

BERTONCINI, E. I. Tratamento de efluentes e reúso da água no meio agrícola. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**. Campinas, v.1, n.1, p.152-169, 2008.

BIANCHI, J. **Análise dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do inseticida Malation, utilizando os sistemas teste de *Allium cepa* e células de mamíferos**. 2008. 165f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

BIRGE, W. J.; BLACK, J. A.; WESTERMAN, A. G. Short-term fish and amphibian tests for determining the effects of toxicant stress on early life stages and estimating chronic values for single compounds and complex effluents. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York, v. 49, p. 807-821, 1985.

BOND, W. J. Effluent irrigation - an environmental challenge for soil science. **Australian Journal of Soil Research**, Melbourne v.36, n.4, p.543-555, 1998.

BAKOPOULOU S.; EMMANOUIL C.; KUNGOLOS A. Assesment of wastewater effluente quality in Thessaly region, Greece, for determinin its irrigation reuse potencial. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 74, p. 188-194, 2011

BRANCO, S. M. Água, Meio Ambiente e Saúde. In: REBOUÇAS, A.C. (Coord.). **Águas Doces do Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação**. São Paulo: Escrituras, 1999. 717p.

BRASIL. Agência Nacional de Águas. Disponibilidade e demandas de recursos hídricos no Brasil Ministério do Meio Ambiente: Brasília, 2005, 134p.

_____. Lei nº 9.433, de 8 janeiro de 1997. Institui a política nacional de recursos hídricos, cria o sistema nacional de gerenciamento de recursos hídricos, regulamenta o inciso xix do art. 21 da constituição federal, e altera o art. 1º da lei 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a lei 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Diário Oficial da União, Brasília, n.6, p. 470, 9 jan. 2001 Seção 1. Disponível em:
<http://www.in.gov.br/imprensa/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=4&data=09/01/1997>>. Acesso em: 25 mai. 2011.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Relatórios das empresas de agrotóxicos de produção, importação, comercialização e exportação, de janeiro a dezembro de 2009.

_____. Decreto n. 24.643, de 10 de julho de 1934. Institui o Código das Águas. Disponível em: **Decreto o Código de Águas**, Brasília, v. 4, p.679, 1934. Disponível em:
<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/d24643.htm>. Acesso em: 23 mai. 2011.

BREGA FILHO, D.; MANCUSO, P. C. S. Conceito de Reuso de água. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reúso de água**. Barueri: Editora Manole, 2003. p.22-36.

BUIKEMA JUNIOR, A. L.; SHERBERGER, S. R. *Daphnia*. **Carolina Tips**, Elon College, North Carolina, v. 15, n. 10, p.37-39, 1977.

BUJDÁKOVÁ, H., et al., The occurrence and transferability of the resistance determinants in 50 amikacin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. **Internat. J. Antimicrob. Agents**, v.22, p. 632-633, 2003.

BULICH, A. A. Use of Bioluminescent bacteria for determining toxicity in aquatic In: MARKINGS L.L.; KIMERLE, R. A. (Ed.) **Aquatic Toxicology**. Baltimore: ASTM STP, 1979, p. 98- 106.

_____. practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples **Process Biochemistry**. London, v.17, n. 2, p. 45-47, 1982.

BURT, C.; O'CONNOR, K.; RUEHR. **Fertigation**. San Luis Obispo: California Polytechnic State University, 1995. 296p.

CAIRNS JUNIOR J.; PRATT, J.R. Trends in Ecotoxicology. **Sci. Tot. Environ**, Amsterdam, v.134, p.7-22, 1993.

CAIRNS JUNIOR, J.; NIEDERLEHNER, B. R. (Ed.). **Ecological Toxicity Testing: Scale, Complexity, and Relevance**, Boca Raton: Lewis Publishers, 1995, 228 p.

CAMPINAS (Cidade). Lei n.12474 de 16 de Janeiro de 2006. **Cria o Programa Municipal de Conservação, Uso Racional de Água em Edificação e dá outras providências**. Campinas. Disponível em: < <http://2009.campinas.sp.gov.br/uploads/393336718.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2011.

CAMPOS J. R. (Coord.) **Tratamento de esgoto sanitário por processos anaeróbio e disposição controlada no solo**. (PROSAB) Rio de Janeiro: ABES.1999. 464p.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M. A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azodyes. **Chemosphere**, Oxford, v.72, p.122-725, 2008.

CARSON, R. **Silent Spring**. Houghton Mifflin Company, Boston. 368p., 1962.

CARY, G. A., MCMAHON J. A., KUC W. J. The effect of suspended solids and naturally occurring dissolved organics in reducing the acute toxicities of cationic polyelectrolytes to aquatic organisms. **Environ. Toxicol. Chem.** New York, v.6, p.469-474, 1987.

CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE. CAS. 2012. Disponível em: < <http://www.cas.org/>>. Acesso em: 15 mai. 2012.

CASARINI, E. **Doses de N e K aplicados via fertirrigação na cultura da roseira (*Rosa sp.*) em ambiente protegido**. 2004.120f. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2004.

CAVALCANTE, F. L. 2007. Avaliação da eficiência de filtros anaeróbios na remoção de coliformes fecais e ovos de helmintos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2008.

CHANDRA, S. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test, **Science of the Total Environment**, Amsterdam. v. 346, p. 56-59, 2005.

CHAPMAN, P. M. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 44, p. 7-15, 2002.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores Anaeróbios: Princípios do Tratamento Biológico de Água Residuárias.** Belo Horizonte:UFMG, 1997.

CHERNICHARO, C.A.L. **Reatores Anaeróbios: Princípios do Tratamento Biológico de Água Residuárias.** 2 ed. v. 5. Belo Horizonte: UFMG, 2007.

_____. et al. Introdução. In: CHERNICHARO, C. A. L. (Coord.) **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios.** Belo Horizonte: Segrac Editora e Gráfica LTDA, 2001.

CHRISTENSEN, A. M.; INGERSLEV, F.; BAUN, A. Ecotoxicity of mixtures of antibiotics used in aquacultures. **Environ Toxicol Chem.**, New York, v. 25, n.8, p. 2208-15, 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Orientação para apresentação de projeto visando a aplicação de água de reúso proveniente de estação de tratamento de esgoto doméstico na agricultura.** Relatório. São Paulo: CETESB. 11p. Disponível em: < <http://www.cetesb.sp.gov.br/solo/publicações-e-Relatórios/1-Publicações-/-Relatórios> > Acesso em: 25 jun. 2010.

_____. **L5.227. Teste de toxicidade com a bactéria luminescente *Vibrio fischeri*:** método de ensaio. São Paulo, 2001, 11p.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e da outras providências Resolução n. 357 de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União:** República Federativa do Brasil: Poder Legislativo, DF, 18 mar 2005. Col. 1, p.58. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/imprensa/visualiza/index.jsp?jornal=1&pagina=58&data=18/03/2005>> Acesso em 25 de junho de 2010.

_____. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Resolução n. 430 de 11 de maio de 2011. **Diário Oficial da União:** República Federativa do Brasil: Poder Legislativo, DF, 16 mai. 2011. p. 89 Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 21 jun. 2011.

CONSELHO NACIONAL DE RECURSOS HÍDRICOS. Estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para a prática de reúso direto não potável de água, e dá outras providências. Resolução n.54, de 28 de novembro de 2005. **Diário Oficial da União:** República Federativa

do Brasil: Poder Legislativo, DF, 09 mar. 2006. Disponível em: <www.cnrh.gov.br>. Acesso em: 18 mai. 2010.

_____. Estabelece as diretrizes e critérios para a prática de reúso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal. Resolução n. 121 de 16 de dezembro de 2010. CNRH, Ministério do Meio Ambiente, 2010. **Diário Oficial da União**: República Federativa do Brasil: Poder Legislativo, DF, 16 mar 2011. Col. 2, p.86. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/autenticidade.html>> Acesso em: 18 de maio de 2010.

CORAUCCI FILHO, B. et al. Pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios por sistemas de aplicação no solo. In.: CHERNICHARO, C. A. L. (Coord.) **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Segrac Editora e Gráfica LTDA, 2001.

CORCORAN, E. et al. (ed). 2010. **Sick Water? The central role of wastewater management in sustainable development**. A Rapid Response Assessment. United Nations Environment Programme, UN-HABITAT, GRID. Disponível em < www.grida.no>. Acesso em: 25 de junho de 2011.

CORDEIRO, G. G. **Salinidade em Agricultura Irrigada**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido. 2001. 38p.

COSTA, D. M. A; BARROS JÚNIOR, E. A. C. Avaliação da necessidade do reúso de águas residuais **Holos Environment**, Rio Claro. v. 2, n 21, p.81-101, 2005.

COSTA, R. H. P. G. Água: um bem público de valor econômico. In: TELLES D. D. COSTA R. H. P. G. (Coord.) **Reúso da água, conceitos, teorias e práticas**. São Paulo: Editora Blucher, 2007. p. 151-178.

_____. Reúso. In: TELLES D. D. COSTA R. H. P. G. (Coord.) **Reúso da água, conceitos, teorias e práticas**. São Paulo: Editora Blucher, 2007. p. 94-140.

COTELLE, S.; MASFARAUD, J. F.; FÉRARD, J.F. Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays. **Mutation Research**, Amsterdam, v.426, p.167-171, 1999.

CRETELLA JUNIOR J. **Comentários à Constituição 1988 Artigos 18 a 22**. 1 ed. v.3 Rio de Janeiro: Editora Forense Universitária, 1990, p.1149-1737.

CRITES, R.W.; REED, S.C.; BASTIAN, R. K. **Land Treatment Systems for Municipal and Industrial Wastes**. McGraw-Hill Inc.: New York, 2000.433p.

CROOK, J.; OKUN, D. Reúso da água para fins não potáveis: seu lugar no gerenciamento de recursos hídricos. **Revista DAE**, n. 160. São Paulo, 1991.

CRUZ, L. M. O. **Tratamento de esgoto sanitário em reator anaeróbio preenchido por casca de coco verde (*Cocos nucifera*) combinado com filtro de areia**. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo,

de MES, T.; ZEEMAN, G.; LETTINGA, G., Occurrence and fate of estrone, 17-estradiol and 17-ethynylestradiol in STPs for domestic wastewater, **Rev. Environ. Sci. Biotechnol**, v. 4, p. 275-280, 2005.

DINESH, N.; SICKERDICK, L., CLIFF, L. Wastewater reclamation processes. In: STEVENS, D. (Ed.) **Growing crops With Reclaimed Waste Water**. Collingwood: Ed. Csiro Publishing, 2006, p. 63-80.

DION, P., BRUCE, W.R., 1983. Mutagenicity of different fractions of extracts of human feces. **Mut. Res.**, Amsterdam. v.119, p.151-160, 1983.

DOMINGUES, D. F.; BERTOLETTI, E. Seleção, Manutenção e Cultivo de Organismos Aquáticos. In: Zagatto, P.A.; Bertoletti, E. **Ecotoxicologia Aquática. Princípios e Aplicações**. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p. 153 – 184.

DREWES, J. E.; HEBERER, T.; REDDERSEN, K. Fate of pharmaceuticals during indirect potable reuse. **Water Sci. Technol.**, Oxford, v. 46, n.3, p.73-80, 2002.

EGITO, L.C.M. et al. Cytotoxic and genotoxic potential on surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 30, n.2, p.435-441, 2007.

FALKENMARK, M. e WIDSTRAND, C. Population and water resources: a delicate balance. **Population Bulletin**, Washington v. 47, n.3, p.1-36. 1992.

FAO **Desenvolvimento de um quadro de Boas Práticas Agrícolas COAG/2003/6** Roma, 2003. 10p.

_____. **Water quality for agriculture - Irrigation and drainage paper 47**. Roma, 1994. 156p.
Disponível em: < <http://www.fao.org/..docrep/T0551E/T0551E00.htm>>. Acesso em 23 jul. 2010.

FEIGIN, A.; RAVINA, I.; SHALHEVET, J. **Irrigation with treated sewage effluent: management for environmental protection**. 1 ed. Berlin: Springer-Verlag, 1991, 224p.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 88, p. 252-259, 2007.

FINK D. R.; SANTOS H. F. A Legislação de reuso de água. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reuso de água**. Barueri: Editora Manole, 2003. p.339-401..

FISKEJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, v.102, p.99-112, 1985.

FLORENCIO, L . BASTOS R., K., X.; AISSE, M. M. **Tratamento e utilização de esgotos sanitários**: Reuso das águas de esgoto sanitário, inclusive desenvolvimento de tecnologias de tratamento para esse fim. PROSAB. Rio de Janeiro: ABES. 2006. 427p.

FORESTI et al., Fundamentos do Tratamento anaeróbio. In: Campos J. R. (Coord.) **Tratamento de esgoto sanitário por processos anaeróbio e disposição controlada no solo**. (PROSAB) Rio de Janeiro: ABES.1999. 464p.

FOSTER, S. et al. Urban wastewater as groundwater recharge – evaluating and managing the risks and benefits. Water World Bank, Washington **Briefing Note 12**, 2003. Disponível em: <www.worldbank.org/gwmate>. Acesso em: 4 jan., 2011.

GABRIELLI, G. **Reuso de efluente de esgoto sanitário anaeróbio e nitrificado em irrigação de roseiras**. 2011. 61 f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, 2011.

GALLEGOS, E. et al. The effects of wastewater irrigation on groundwater quality in Mexico. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 40, n.2, p.45-52, 1999.

GERARDI, M. H. **Nitrification and denitrification in the activated sludge process**. New York: Environmental protection, 2002. ISBN 0 471 065080.

GESAMP (IMO/FAO/UNESCO-IOC/WHO/IAEA/UN/UNEP. Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture. **Rep. Stud.** GESAMP, n. 65, 40 p., 1997. Disponível em: <<http://www.gesamp.org/>>. Acesso em: 20 jun. 2012.

GOOGLEMAPS. **Dados cartográficos.** 2012. Disponível em: <<http://maps.google.com.br/maps?q=-22.825495,-47.063423&ll=-22.825031,-47.063509&spn=0.00536,0.009645&num=1&t=h&z=17>>. Acesso em: 20 jun. 2012.

GÖMÜRGEN, A. N. Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa* L. **Cytologia.** v. 70, p.119-128, 2005.

GONÇALVES, F. G. **Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patógenos e substâncias nocivas. Aplicações para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidroponia.** PROSAB. ABES: Rio de Janeiro. 2003, 422p.

GRANT, W. The present status of higher plants bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research,** Amsterdam, v. 310, n. 2, p. 175-85, 1994.

GRISOLA, C. K. et al. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. **Gente. Mol. Biol.,** Rubeirão Preto. v. 28, p. 334-338, 2005.

GROUP OF EXPERTS ON THE SCIENTIFIC ASPECTS OF MARINE ENVIRONMENTAL PROTECTION (GESAMP). **Towards safe and effective use of chemicals in coastal aquaculture** Report n°65 (IMO/FAO/ UNESCO-IOC/ WMO/ WHO/ TAEA/ UN/ UNEP). Rome,1997. 52p.

GROVER, I. S.; KAUR, S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assay. **Mutation Research,** Amsterdam, v. 426, p.183-188, 1999.

HALLIWELL, D. J.; BARLOW, K. M.; NASH, D. M. A review of the effects of wastewater sodium on soil physical properties and their implications for irrigation systems. **Australian Journal of Soil Research,** Melbourne. n. 39, p. 1259–1267, 2001.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V., Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays, **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 11, n.7, p.714-719, 1978.

HARTMANN, A., ALDER, A. C., KOLLER, T. Identification of fluoroquinolone antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital water. **Environmental Toxicology and Chemistry**, New York. n.17, p.377–82, 1998.

HERNANDO, M. D. et al; Combined toxicity effects of MTBE and pesticides measured with *Vibrio fischeri* and *Daphnia magna* bioassays. **Water Research**, New York v.37, p. 4091-4098, 2003.

HESPANHOL, I.; Health and technical aspects of the use of wastewater in agriculture and aquaculture. In: RODRIGUES, F. (Ed.). **Socioeconomic and environmental issues in water projects – selected readings**. The Economic Developing Institute of the World Bank.WHO, 1994.

_____. Potencial de reúso de água no Brasil: agricultura, indústria, município e recarga de aquíferos. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reúso de água**. Barueri: Editora Manole, 2003. p. 37-97.

_____. Esgotos como recurso hídrico. Parte I: Dimensões políticas, institucionais, legais, econômico-financeiras e sócio-culturais. **Engenharia** (São Paulo), São Paulo, v. 55, n. 523, 1997.

HODSON, P.V. Biomarkers and bioindicators in monitoring and assessment: the state of the art. In: Adams, S. M. (Ed.), **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. Bethesda: American Fisheries Society, 2002. p. 591– 619.

INGERSLEV, F. AND HALLING-SORENSEN, B., Biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge, **Environ. Toxic. Chem**, New York. v.19, p.2467-2673, 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Indicadores de Desenvolvimento Sustentável**. Estudos & Pesquisas- Informação Geográfica n.7, Rio de Janeiro, 2010. 443p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **Water quality-determination of the mortality of *Daphnia magna* Straus (Crustacea, Cladocera). ISO 6241.** Geneva, 1982.

_____. **Water Quality: Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute Toxicity Test ISO 6341.** Geneva, 1982.

ISIDORI, M., et al. A. Chemical and toxic evaluation of a biological treatment for olive-oil mill wastewater using commercial microbial formulations. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 64, n. 5, p. 735-739, 2004.

JNAD, I. et al. Subsurface drip of residential effluent: I. soil chemical characteristics. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.44, n.5, p.1149-1157, 2001.

KELLY, J.; UNKOVICH, M.; STEVENS, D. Crop nutrition considerations in reclaimed water irrigation systems. In: STEVENS D. (Ed.) **Growing crops With Reclaimed Waste Water**. Ed. Csiro Publishing, 2006, p. 91-103.

KÜMMERER, K., et al. European hospitals as a source for platinum in the environment in comparison with other sources. **Sci. Total Environ.** v. 225, p. 155-165, 1999.

_____. Antibiotics in the aquatic environment – A review – Part I. **Chemosphere**, Oxford. v. 75, p.417–434, 2009.

_____.; AL-AHMAD, A.; MERSCH-SUNDERMANN, V. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. **Chemosphere**, Oxford. v. 40, p. 701-710, 2000.

LAVRADOR FILHO, J. **Contribuição para o entendimento do reúso planejado de água e algumas considerações sobre suas possibilidades no Brasil.** 198f., 1987. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Hidráulica). Escola Politécnica de São Paulo. Universidade de São Paulo, 1987.

LEE S. K., et al. Effects of dissolved humic materials on acute toxicity of some organic chemicals to aquatic organisms. **Water Research**, New York, v. 27, p. 199-204, 1993.

LEVAN, A. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. **Nature**, London, v.156, p.751-752, 1945.

LINTELMANN, et al. Endocrine disruptors in the environment. IUPAC technical report. **Pure Appl. Chem.** v. 75, n. 5, p. 631–681, 2003.

MARINHO, L. E. O. **Uso de efluente sanitário de Complexo hospitalar na irrigação de Roseira.** 2010. 131f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

MARCANO, L., et al. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. **Environ. Res.**, San Diego. v. 94, p. 221-226, 2004.

MARQUES, M., et al. Uso de esgoto tratado em irrigação: Aspectos agronômicos e ambientais. In.: BASTOS R. K. (Coord.) **Utilização de esgotos tratados em fertirrigação,**

MATHAI, D.; JONES, R.; PFALLER, M. Epidemiology and frequency of resistance among pathogens causing urinary tract infections in 1510 hospitalized patients: a report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance ProGram. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.** v. 40, n. 3, p. 129-136, 2001.

MATSUMOTO, S.T. Estudos sobre a influência de efluentes potencialmente genotóxicos, derivados de curtume, na contaminação de recursos hídricos da região de Franca/SP. 2004. 216 f. Tese (Doutorado em Genética), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto-SP, 2004.

MATSUMOTO, S.T.; MARIN-MORALES, M.A. Mutagenic potential evaluation of the water of a river that receives tannery effluents using the *Allium cepa* test system. **Cytologia,** Tokyo, v.69, n.4, p.399-408, 2004.

MCCARTY, P. L. One hundred years of anaerobic treatment. In: HUGHES et al. (Ed.) **Anaerobic Digestion.** Amsterdam: Elsevier Biomedical Press B. V., 1982. p.3-21.

MELLO, M. L. S. et al. Monitoramento por ensaio biológicos de poluição ambiental no lago do parque ecológico Hermógenes Freitas Leitão Filho (1998 a 2004). In: Congresso de Meio Ambiente de Paulínia e Região Metropolitana de Campinas, 1, 2004. **Anais,** Campinas: Unicamp, 2004 p. 1-8.

MELO, H. N. DE S. et al. Salinização no pós-tratamento de esgotos por disposição controlada no solo. In: CHERNICHARO, C. A. L. (coordenador) **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios** - Coletânea de Artigos Técnicos. Prosab. v.2, 200.

MÉNORET, C.; BOUTIN, C.; LIÉNARD, A.; BRISSAUD, F. Use of recycling through medium size granular filters to treat small food processing industry effluents. **Water Science Technology**, Oxford,. v.45, n.12, p. 225-232, 2002.

METCALF & EDDY Inc. **Wastewater engineering, treatment, disposal and reuse**. 4. ed. New York: McGraw - Hill, International Editions. 2003. 1819 p.

MILLER, K. J. US Water Reuse: current status and future trends. **Water Environment & Technology**, Alexandria, v. 2, n. 11, p. 83-89, 1990.

MORRIS, R. D.et al. Chlorination, chlorination by-products, and cancer: a meta-analysis. **Amer. J. Public Health**, Boston, v.82, p. 955-963, 1992.

MOTA, S. B.; VON SPERLING, M. (Coord.). **Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção**. PROSAB. Rio de Janeiro: ABES, 2009. 428p.

MUNNS, R. Genes and salt tolerance: Bring them together. **New Phytologist**, Cambridge. v.143, p.645-663, 2005.

NARDOCCI, A. C. Avaliação de riscos em reúso de água. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reúso de água**. Barueri: Editora Manole, 2003. p. 403-431.

NAVAL, L., OP.; COUTO, T., C. Remoção de nitrogênio amoniacal em efluentes de sistemas anaeróbios. In. : AIDIS; Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. Avanzando hacia los Objetivos de Desarrollo del Milenio en el marco de la ingeniería sanitaria ambiental. Asunción, Paraguay **Resumos...** Asunción: AIDIS Paraguay, 2005. p. 1-5, Ilus, tab, mapas.

NIETO, R., Caracterização ecotoxicológica de efluentes líquidos industriais- ferramenta para ações de controle da poluição das águas. In.: Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 27. 2001, **Resumos...** Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001.

OLIVEIRA, M.; MAIA, C., E. Qualidade físico-química da água para irrigação em diferentes aquíferos na área sedimentar do estado do Rio Grande do Norte. **R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, Campina Grande, v. 2, p. 17-21, 1998.

OKAMURA, H.; AOYAMA, I.; Liu, D.; MAGUIRE, R.J.; PACEPAVICIUS, G.J.; LAU, Y. L. Photodegradation of Irgarol 1051 in water. **J. Environ. Sci. Health.**, New York, v. 34, p. 225–238., 1999.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION, DEVELOPMENT (OECD) **OECD 202-Guideline for testing of chemicals. *Daphnia sp.*, acute immobilisation test.** Paris, 2004.

PAGANINI, W. S. Reúso de água na agricultura. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reúso de água.** Barueri: Editora Manole, 2003. p. 339-401.

PALMA, P. et al. Acute Toxicity of Antrazine, Endosulfan Sulphate and Chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, relative to Their Concentrations in Surface Waters, from the Alentejo Region of Portugal. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, New York, v.81 p. 485-489, 2008.

PEDRO, J. **Avaliação dos efeitos citotóxicos e mutagênico do inseticida Fipronil (Regente), usando sistema teste de *Allium cepa*.** 2008. 117f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2008.

PELL, M. e NYBERG, F. Infiltration of wastewater in a newly started pilot sand-filter system: I Reduction of organic matter and phosphorus. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.18, p. 451-457, 1989.

PEREZ, S.; EICHHORN, P.; AGA, D.S, Evaluating the biodegradability of sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole, and trimethoprim at different stages of sewage treatment, **Environ. Toxic. Chem.**, New York. v. 24, p.1361- 1368, 2005.

PHILIPPI JUNIOR, A.; BORANGA, J. A. In: MANCUSO, P. S. S.; SANTOS, H. F. (Ed.) **Reúso de água.** Barueri: Editora Manole, 2003. p. IX-XII.

PIMENTA, M. et al. **Desempenho de reatores piloto tipo UASB e híbrido para o tratamento de esgoto doméstico.** In: Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 23, Campo Grande, Brasil. 2005.

PIVELI, R. P.; MELFI, A. J.; MONTES, C. R.; GOMES, T. M. Uma reflexão sobre a qualidade e uso de esgoto tratado por lagoas de estabilização na agricultura: caso de Lins/SP. **Revista DAE**, n. 177, p. 63-70, 2008.

POLGLASE, P. J. et al. Mineralization and leaching of nitrogen in an effluent-irrigated pine plantation. **Journal of Environmental Quality**, Madison, v.24, p.911-920,1995.

POMPEU, C. T. O papel do conselho nacional de recursos hídricos. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v.55, p. 42-44, 2003.

PROCHASKA, C. A.; ZOUBOULIS, A. I. Performance of intermittently operated sand filters: a comparative study, treating wastewater of different origins. **Water Air and Soil Poll.**, Dordrecht n. 147, p. 367-388, 2003.

QUINZANI-JORDÃO, B. **Ciclo celular em meristemas: La formación de intercâmbios entre cromátidas hermanas.** 1987. 276f. Tese (Doutorado) - Universidade de Complutense, Madrid, 1987.

RAMALHO, J. F. G. P.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; VELLOSO, A. C. X. Contaminação da microbacia de Caetes com metais pesados pelo uso de agroquímicos. **Pesquisa agropecuária brasileira.** Brasília, v. 35, n.7 p. 1289-1303, 2000.

RAND, G.M.; PETROCELLI, S.R. Introduction. In: _____. (Ed.). **Fundamentals of aquatic toxicology: methods and applications**, New York: Hemisphere, 1985. p.1-28.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal.** 6.ed. Rio de Janeiro: Ed., Guanabara Koogan, 2001, 906p.

REDDY, B. S., et al. Metabolic epidemiology of colon cancer: fecal mutagens in healthy subjects from rural Kuopio and urban Helsinki, Finland. **Mut. Res.**, Amsterdam. v. 152, p.97-105, 1985.

RICHARDS, L. A. **Diagnosis and improvement of saline and alkalisols.** Agriculture Handbook Washington: United States Salinity Laboratory, 1954.160p.

RODRIGES, E. S.; UMBUZEIRO, G. A. Integrating toxicity testing in the wastewater management os chemical storage terminals – A proposal based on a ten-years study. **Journal of Hazardous Materials.** v. 186, p. 1909-1915, 2011.

RUIZ, M. J., et al., Toxicity Assessment of Pesticides Using the Microtox™ Test: Application to Environmental Samples. **Bull. Environ. Contam. Toxicol**, New York. v. 59, p. 619-625, 1997.

RUSANA M. J. M.; HINNAWIB S.; ROUSANC L., Long term effect of wastewater irrigation of forage crops on soil and plant quality parameters. **Desalination**, Amsterdam, v.215, p.143–152. 2007.

SABBAH, I.; GHATTAS, B.; HAYEEK, A.; OMARI, J.; HAJ, Y.; ADMON, S.; GREEN, M. Intermittent sand filtration for wastewater treatment in rural areas of the Middle East-a pilot study. **Water Science and Technology**, Oxford. v. 48, n. 11–12, p. 147–152, 2003.

SALA, L.; SERRA, M. Towards sustainability in water recycling. **Water Science and Technology**, Oxford v. 50, n. 2, p. 1- 8, 2004.

SALASSIER, B. **Manual de Irrigação**, 6. Ed. Viçosa: UFV, Impr. Uni.,1995. 657p.

SANCHES, L. et al. **Avaliação da operação em regime hidráulico transiente de um reator UASB e filtros anaeróbios para o tratamento de esgotos sanitários**. In: CAMPO J.R. (Coord.) Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. Coletânea de trabalhos técnicos. PROSAB São Carlos: ABES. 2000. 464p.

SANTOS, H. F; MANCUSO, P. C. S. A escassez e o reúso de água em âmbito mundial In: _____. (Ed.) **Reúso de água**. Barueri: Editora Manole, 2003. p.1-19.

SEDLAK, D. L., GRAY, J. L.; PINKSTON, K. E. Understanding microcontaminants in recycled water, **Environ. Sci. Technol.**, Easton. v. 34, p.509, 2000.

SHUVALL, H, I. **Water Renovation and Reuse**, Nova York: Academic Press, 1977, 463 p.

SILVEIRA, I., C., T. **Cloro e ozônio aplicados à desinfecção de efluente hospitalar tratado em contadores biológicos rotatórios, com avaliação de efeitos tóxicos em *Daphnia similis***. 2004. 173 f. Tese (Doutorado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/5390> Acesso em: 17 abr. 2011.

SIMPSON, K. L.; HAYER, K. P. Occurrence and removal study highly mutagenic chlorinated furanone MX in disinfected drinking water. **Australian Centre for Water Quality Research Report 1/93**, Adelaide. 1993.

SILVA, T. L.; TAVARES, C., R., G.; ABREU, E. T. Tratamento de efluente hospitalar por métodos oxidativos avançados. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, 8, 2009, Uberlândia, **Resumos...** Uberlândia, 2009.

SOBRINHO P. A.; JORDÃO E. P. pós-tratamento de efluentes de reatores anaeróbios – uma análise crítica In.: CHERNICHARO, C. A. L. (Coord.) **Pós-tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios**. Belo Horizonte: Segrac Editora e Gráfica LTDA, 2001.

SOUZA J. P. **Toxicidade aguda e risco ambiental do diflubenzuron para *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata* e *Lemna minor* na ausência e presença de sedimento**. 2008, 78f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

SOUZA, T. S. et al. The Allium cepa bioassay to evaluate landfarming soil, before and after the addition of rice hulls to accelerate organic pollutants biodegradation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, New York. v. 72, p.1363–1368, 2009.

SPEECE, R. E. **Anaerobic Biotechnology for industrial wastewaters**. Nashville, Tennessee: Archae Press. 1996.

SPRAGUE, J. B.; MCLEAY, D., J. 1992. Biological test method: Toxicity test using luminescent bacteria (*photobacterium phosphoreum*). **Environmental Protection Service**, Report EPS 1/RM/24, 1992, 61 p.

STEVIK, T.; AUSLAND, A, K.; G.; HANSSEN, J. Retention and removal of pathogenic bacteria in wastewater percolating through porous media: a review. **Water Research**, New York. v 38, n. 6, p. 1355-1367, 2004.

SURAPANENI, A.; OLSSON, K.A., Sodification under conjunctive water use in the Shepparton irrigation region of northern Victoria: a review. **Aust. J. Soil Res**, Melbourne. v.42, p.249–263, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant physiology. 3.ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2009. 719p

TAMBOSI J. L. **Remoção de fármacos e avaliação de seus produtos de degradação através de tecnologias avançadas de tratamento**. 2008. 141f. Tese. (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2008.

TELLES, D. A.; DOMINGUES, A. F. Água na Agricultura e Pecuária. In.: REBOUÇAS, A.C. (Coord.). **Águas Doces do Brasil: Capital Ecológico, Uso e Conservação**. São Paulo: Escrituras, 1999. 717p.

TERNES, T. A. et al., Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirectpotable water reuse, **Report EU-POSEIDON project**, EVK1-CT-2000-00047, Germany, 2004.

TONETTI, A. L. **Pós-tratamento de filtro anaeróbio por filtros de areia**. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Civil)- Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Univesidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

TONON, D.D. **Tratamento de efluente anaeróbio : condicionamento em filtro de areia visando lançamento e reúso**. 2011. 251f. Tese. (Doutorado em Engenharia Civil) – Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

TOZE, S. Reuse of Effluent- Benefits and Rosks. **Agricultural Water Management**, Amsterdam. v.80, n.1-3, p. 147-159, 2006.

TRIEBSKORN, R. et al. Monitoring pollution in River Mures, Romania, part II: metal accumulation and histopathology in fish. **Environ Monit Assess**, Dordrecht, v. 141, p. 177-188, 2008.

TRUHAUT R: Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, New York, v.1, p.151-173, 1977.

TÜRKOGLU, S. Evaluation of genotoxic effects of sodium propionate, calcium propionate and potassium propionate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Food Chem Toxicol** v.46. p. 2035-2041, 2008.

UMBUZEIRO G. A. et al. Influência da Sacarose e do Cloreto de Sódio na Avaliação da Toxicidade de Amostras Ambientais para *V. fischeri* **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 5, n. 1, 2010, 71-73, 2009.

UMBUZEIRO, G. A.; RODRIGUES, P. F. O teste de toxicidade com bactérias luminescentes e o controle da poluição das águas. **Mundo Saúde**, São Paulo. v. 28, n.4, p. 444-449, 2004.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). **Guidelines for Wastewater Irrigation**. Melbourne, 1991.

_____. **Development of water quality-based permit limitations for toxic pollutants: national policy, United States Federal Register**. Washington, 1991. 49:9016-9019.

_____. **Endocrine Disruptor Screening Testing Advisory Committee (EDSTAC)**, final report, 1998. Disponível em <<http://www.epa.gov/opptintr/opptindo/finalrept/htm>>. Acesso em 10 jan. 2012.

_____. **Guidance and recommendations for whole effluent toxicity (WET) testing (40 CFR Part 136)**. Washington, 2000. 20460. EPA/821/B-00/004.

_____. **Guidelines for Water Reuse**. Washington, 2004. EPA/625/R-04/108.

_____. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. Washington, 1991. EPA/600/4-90-027.

_____. **Methods for aquatic toxicity identification evaluations: phase I toxicity characterization procedures**. Washington, 1991. EPA/600/6-91-003.

_____. **Methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms**. Cincinnati, 1993. EPA 600/4-91/002

_____. **Methods for aquatic toxicity identification evaluations: phase II toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity**. Washington, 1993. EPA/600/R-92-080.

_____. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, fifth ed.** U.S. Environmental Protection Agency Office of Water 4303T/1200

_____. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving Waters to freshwater and marine organisms**, Cincinnati, 2007. EPA/600/4-90/027F.

VAN HAANDEL, A. C.; LETTINGA, G. **Tratamento anaeróbio de esgotos. Um manual para regiões de clima quente.** Epgraf, Campina Grande. 2008.

VAN LEEUWEN C.J. Short term toxicity test. In: KRUIJF, H.A.M.; ZWART, D.; VISWANATHAN, P.N.; RAY, P.K. **Manual on Aquatic Ecotoxicology.** Índia: Editora, 1988. 332p.

VARALLO, A. C. T.; CARVALHO, L.; SANTORO, B. L.; SOUZA, C. F. Alterações nos atributos de um Latossolo Vermelho-amarelo irrigado com água de reuso. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.14, n.4, p.372-377, 2010.

VENTURA, B. C. **Avaliação dos efeitos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do herbicida atrazina, utilizando *Allium cepa* e *Oreochromis niloticus* como sistema-teste.** 2004. 133 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

VILLARROEL, M. J. et al. Acute, chronic and sublethal effects of the herbicide propanil on *Daphnia magna*. **Chemosphere**, Oxford, v. 53, n.8, p.857-64, 2003.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos, 1996, 243p. 2ª Edição, Belo Horizonte.

_____. **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos.** 3.Ed. Belo Horizonte: DESA-UFMG, 452p., 2005.

WANG, Y.; FAN, Y.; GU, J. D. Aerobic degradation of phthalic acid by Comamonas acidivorans Fy-1 and dimethyl phthalate by two reconstituted consortia from sewage sludge and high concentrations. **World journal of microbiology & biotechnology**, Oxford, v;19, p.811–815, 2003.

WESTERHOFF, G. P. An update of research needs for water reuse. In: Water Reuse Symposium, 1984, San Diego. **Proceedings...**San Diego, v. 3, p. 1731-1742, 1984.

WEYER, K. U.; ELLIS, J. C. Toxicity ranking of tests with luminescent bacteria (*Photobacterium Phosphoreum*). **Internal report, WDA Consultants Inc.**, 76 p, 1994.

WHITE, P. A.; RASMUSSEN, J. B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 410, p. 223–236, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Reuse of effluents: methods of wastewater treatment and health safeguards**. Report of a WHO Meeting of Experts. Geneva; World Health Organization; 1973. 63 p. (WHO) Technical Report Series, 517.

_____. **Health Guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture- Technical Report Series**. Geneva, 1989. 74p.

_____. **Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Wastewater Use in Agriculture**. Geneva, 2006, 218p. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/gsuweg2/en/index.html>. Acesso em: 18 mai. 2012.

WINNER, R. W.; FARRELL, M. Acute and chronic toxicity of copper to four species of *Daphnia*. **J. Fish. Res. Board. Can.**, Ottawa, v. 33, p.1685–1691, 1976.

WOLLENBERGER, L.; HALLING-SØRENSEN, B.; KUSK, K.O., 2000. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. **Chemosphere**, Oxford.v.40, p.723–730, 2000.

YING G. Organic compounds in reclaimed water and their potential risk to the environment and human health. In: STEVENS D. (Ed.) **Growing Crops With Reclaimed Waste Water**. Ed. Csiro Publishing, 2006, p. 159-167.

YOUNG, J. C.; McCARTY, P. L. The anaerobic filter for waste treatment. **Journal Wat. Poll. Cont. Fed**. V.41 p. 60-65, 1969.

ZAGATTO, P. A. Ecotoxicologia In: ZAGATTO P. A.; BERTOLETTI E. (Ed.) **Ecotoxicologia Aquática Princípios e Aplicações**. 1ed. São Carlos: Ed. Rima, 2006, p-1-13.

ZWART, D.; SLOOFF, W. The microtox^{TM*} as an alternative assay in the acute toxicity assessment of water pollutants. **Aquatic Toxicology**, Amsterdam. v. 4, p.129-138 129, 1983.

ANEXO

Anexo A. Dados experimentais dos testes realizados em *D. similis*

Tabela 1- Resultados dos testes definitivos de toxicidade aguda em *D. similis* nos efluentes bruto, anaeróbio e nitrificado. C1= menor concentração e C5 100% da amostra. IO= tempo inicial; Unidades: OD= mg.L⁻¹; Condutividade Elétrica: $\mu\text{s.cm}^{-1}$

(Continua)

Julho/2010		Controle						Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>									
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	IO	Imov.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	-	-	-	-	-	20	1	-	>1	-	20	3	-	-	-
C2	20	0	-	-	-	-	-	20	2	-	>1	-	20	1	-	-	-
C3	20	0	-	-	-	-	-	20	2	-	>1	-	20	0	-	-	-
C4	20	0	-	-	-	-	-	20	0	-	>1	-	20	0	-	-	-
C5 maior	20	0	-	-	-	-	-	20	0	-	>1	-	20	3	-	-	-
Julho/2010		Controle						Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>									
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	IO	Imov.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	4	7.32	>1	124,5	20	2	7,82	>1	393	20	6	-	-	-
C3	20	0	20	20	7.52	>1	292	20	2	7,89	>1	581	20	3	-	-	-
C4	20	0	20	20	7.47	>1	450	20	1	7,85	>1	823	20	5	-	-	-
C5 maior	20	0	20	20	7.26	>1	720	20	8	7,72	>1	1057	20	4	-	-	-
ago/2010		Controle						Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>									
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	IO	Imov.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.	IO	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	-	-	-	-	-	20	0	7,9	>2	-	20	1	8,25	>2	-
C2	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,03	>2	-	20	1	8,89	>2	-
C3	20	0	-	-	-	-	-	20	1	8,14	>2	-	20	2	8,76	>2	-
C4	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,23	>2	-	20	17	8,49	>2	-
C5 maior	20	0	-	-	-	-	-	20	5	8,31	>2	-	20	20	8,30	>2	-

Tabela 1- Resultados dos testes definitivos de toxicidade aguda em *D. similis* nos efluentes bruto, anaeróbio e nitrificado. C1= menor concentração e C5 100% da amostra. I0= tempo inicial; Unidades: OD= mg.L⁻¹; Condutividade Elétrica: $\mu\text{s.cm}^{-1}$

(Continuação)

set/2010	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
	Água de cultivo		Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	20	7,5	>1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	20	0	20	20	7,53	>1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3	20	0	20	20	7,17	>1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4	20	0	20	20	7,11	>1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C5 maior	20	0	20	20	7,5	>1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Setembro/2010	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
Concentrações	Água de cultivo		Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	0	>1	-	-	-	-	-	-	-	20	1	-	>1	-
C2	20	0	20	1	>1	-	-	-	-	-	-	-	20	1	-	>1	-
C3	20	0	20	1	>1	-	-	-	-	-	-	-	20	3	-	>1	-
C4	20	0	20	1	>1	-	-	-	-	-	-	-	20	10	-	>1	-
C5 maior	20	0	20	0	6,91	>1	-	-	-	-	-	-	20	15	4,9	3,49	743
Nov/2010	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
Concentrações	Água de cultivo		Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,14	>1	591	20	0	7,08	>3	453
C2	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,19	>1	649	20	4	6,82	>3	490
C3	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,21	>1	723	20	17	6,29	>3	538
C4	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,31	>1	780	20	20	5,22	>3	584
C5 maior	20	0	-	-	-	-	-	20	0	8,28	>1	838	20	20	4,22	3,49	636

Tabela 1- Resultados dos testes definitivos de toxicidade aguda em *D. similis* nos efluentes bruto, anaeróbio e nitrificado. C1= menor concentração e C5 100% da amostra. I0= tempo inicial; Unidades: OD= mg.L⁻¹; Condutividade Elétrica: $\mu\text{s.cm}^{-1}$

(Continuação)

Nov/2010		Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>													
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio				Ef. Nitrificado					
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	1	7,45	>1	-	20	0	7,56	>1	-	20	1	6,01	>3	
C2	20	0	20	13	7,47	>1	-	20	1	7,14	>1	-	20	0	5,74	>3	
C3	20	0	20	19	7,44	>1	-	20	0	7,08	>1	-	20	5	5,54	>3	
C4	20	0	20	20	7,42	>1	658	20	0	7,09	>1	-	20	2	5,36	>3	
C5 maior	20	0	20	20	7,45	>1	-	20	11	7,08	>1	879	20	3	5,05	>3	
Março2011		Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. similis</i>													
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio				Ef. Nitrificado					
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	-	-	-	-	-	20	2	7,97	>1		20	1	6,98	>5	
C2	20	0	-	-	-	-	-	20	1	8,00	>1		20	0	6,67	>5	
C3	20	0	-	-	-	-	-	20	2	8,06	>1		20	2	6,35	>5	
C4	20	0	-	-	-	-	-	20	0	7,99	>1		20	5	5,71	>5	
C5 maior	20	0	-	-	-	-	-	20	2	8,02	>1		20	20	5,01	>5	
Março/2011		Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. similis</i>													
		Água de cultivo		Ef. Bruto				Ef. Anaeróbio				Ef. Nitrificado					
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	0	7,92	>1	-	20	1	8,03	>1	-	20	2	6,47	>5	-
C2	20	0	20	5	-	>1	-	20	0	8,05	-	-	20	0	6,16	>5	-
C3	20	0	20	3	-	>1	-	20	0	-	-	-	20	3	5,68	>5	-
C4	20	0	20	11	-	>1	-	20	4	8,09	-	-	20	20	4,65	>5	-
C5 maior	20	0	20	20	8,19	>1	-	20	13	7,78	>1	-	20	20	7,06	>5	-

Tabela 1- Resultados dos testes definitivos de toxicidade aguda em *D. similis* nos efluentes bruto, anaeróbio e nitrificado. C1= menor concentração e C5 100% da amostra. I0= tempo inicial; Unidades: OD= mg.L⁻¹; Condutividade Elétrica: $\mu\text{s.cm}^{-1}$ (Continua)

Outubro/2011	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
	Água de cultivo		Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	0	-	-	-	20	0	-	-	-	20	0	-	-	-
C2	20	0	20	2	-	-	-	20	2	-	-	-	20	0	-	-	-
C3	20	0	20	2	-	-	-	20	0	-	-	-	20	0	-	-	-
C4	20	0	20	4	-	-	-	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-
C5 maior	20	0	20	6	6,89	>1	1145	20	3	6,8	>2	1167	20	0	6,85	>2	1072
Outubro/2011	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
Água de cultivo			Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-	20	0	-	-	-
C2	20	0	20	0	-	-	-	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-
C3	20	0	20	4	-	-	-	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-
C4	20	0	20	3	-	-	-	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-
C5 maior	20	0	20	7	6,62	>1	1070	20	2	6,52	>1	1229	20	2	6,67	>2	1209
Nov/2011	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. Similis</i>														
Água de cultivo			Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1 menor	20	0	20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	-	-	-
C2	20	0	20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	-	-	-
C3	20	0	20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	-	-	-
C4	20	0	20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	-	-	-
C5 maior	20	0	20	20	-	-	-	-	-	-	-	-	20	0	6,55	>5	889
Dez/2011	Controle		Teste de Toxicidade Agudo em <i>D. similis</i>														
Água de cultivo			Ef. Bruto					Ef. Anaeróbio					Ef. Nitrificado				
Concentrações	I0	Imov.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.	I0	Imov.	pH	OD	Con.
C1	20	0	20	1	-	-	-	20	5	-	-	-	20	0	-	-	-
C2	20	0	20	6	-	-	-	20	1	-	-	-	20	0	-	-	-
C3	20	0	20	10	-	-	-	20	11	-	-	-	20	2	-	-	-
C4	20	0	20	12	-	-	-	20	16	-	-	-	20	0	-	-	-
C5 maior	20	0	20	20	7,73	>1	1148	20	16	6,97	>1	1047	20	2	6,83	>5	910

