

Avaliação Ecotoxicológica de Solos Tropicais Tratados com Lodo de Esgoto Utilizando Bioensaios com Organismos Aquáticos

Thiago Teles Alvaro

Bolsista de Iniciação Científica, Geologia, UFRJ

Ricardo Gonçalves Cesar

Orientador, Geógrafo, M. Sc.

Helena Polivanov

Co-orientadora, Geóloga, D. Sc.

Silvia Gonçalves Egler

Co-orientadora, Bióloga, M. Sc.

Resumo

O uso dos sólidos obtidos do lodo de esgoto (LE) vem sendo aplicado como uma técnica de regeneração e fertilização de áreas degradadas, sendo atualmente vista como uma alternativa para a disposição final desses resíduos. No entanto, agentes tóxicos estão presentes em proporções diferentes nos diversos LEs, podendo se acumular no ambiente e persistir por longo período, prejudicando a saúde dos ecossistemas. O presente trabalho visa a avaliação ecotoxicológica de solos tratados com LE através de bioensaios agudos com microcrustáceos e crônicos com algas clorofíceas. Foram observados maiores níveis de toxicidade aguda no Latossolo (LT) em relação ao Chernossolo (CH), sendo estimada uma CE50 de 26,21% e 31,11%, para o LT e CH, respectivamente. Em uma situação hipotética de exposição contínua ou sucessiva, representados através dos ensaios crônicos, no LT a dose ideal (6,66%) se mostra altamente tóxica, enquanto no CH a dose considerada tóxica foi a partir de 19,74% de LE.

1. Introdução

A fração sólida do resíduo gerado em estações de tratamento de esgoto doméstico recebe o nome de lodo de esgoto (LE). Este material vem sendo pesquisado desde a década de 70 na busca de alternativas viáveis para seu descarte. Bettiol & Camargo (2000) apontam como disposição final do LE os aterros sanitários, bota-fora oceânicos ou a incineração. Os referidos autores ainda indicam como alternativas mais usuais a reutilização industrial, a conversão em óleo combustível, a recuperação de áreas degradadas, o uso agrícola e florestal. Por ser um material rico em matéria orgânica e nutrientes, sua utilização como regenerador de solos ou fertilizante agrícola se torna uma opção extremamente interessante do ponto de vista econômico e ambiental. No entanto, a principal restrição do uso do LE nessas atividades diz respeito à presença de patógenos compostos orgânicos e inorgânicos (incluindo metais pesados), capazes de provocar sérios danos ao ecossistema.

No que se refere aos metais pesados, a presença de elevadas concentrações no solo não é uma clara indicação de risco, visto que somente frações biodisponíveis poderão ser transferidas aos organismos e causar efeitos ao ecossistema. Neste sentido, é importante ressaltar que a disponibilidade e a mobilidade de metais pesados são controladas por fenômenos de adsorção, complexação, oxi-redução, e precipitação. A avaliação da biodisponibilidade é realizada, em geral, através de ensaios químicos (extração seqüencial ou especiação geoquímica), e ensaios ecotoxicológicos, com o emprego de bioindicadores de qualidade ambiental.

Os testes ecotoxicológicos são amplamente utilizados para avaliação da qualidade dos recursos naturais, relacionando concentrações de xenobiontes no ambiente e seus efeitos adversos à saúde dos ecossistemas. Organismos edáficos, aquáticos e plantas são largamente utilizados como organismos-teste em bioensaios, bem como na estimativa das frações biodisponíveis (Fjällborg *et al.* 2006). Micro-crustáceos aquáticos e algas clorofíceas são comumente empregados na avaliação da qualidade de águas fluviais e de sedimentos de fundo. Alguns autores também propõem a utilização destes organismos na avaliação do potencial tóxico de solos em situações hipotéticas de risco, onde contaminantes possam ser mobilizados (lixiviados ou erodidos) em direção a sistemas aquáticos vizinhos (Maxam *et al.* 2000, Fjällborg *et al.* 2005). Micro-crustáceos da espécie *Daphnia similis* e algas da espécie *Pseudokirchneriella subcapitata* são usualmente empregadas em bioensaios em decorrência da viabilidade de cultivo em laboratório, curto ciclo de vida e sua ampla ocorrência em sistemas fluviais. Outro fator que favorece a escolha destes organismos é sua reprodução por partenogênese, possibilitando a obtenção de populações mais homogêneas (Zagatto & Bertoletti 2006) para utilização em testes ecotoxicológicos.

O presente trabalho visa a avaliação ecotoxicológica dos lixiviados de Latossolos e Chernossolos tratados com diferentes doses de LE, utilizando bioensaios com micro-crustáceos aquáticos e algas clorofíceas, simulando o transporte dos contaminantes para ambientes aquáticos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostragem

A amostra de LE foi obtida junto à Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) da Ilha do Governador (Rio de Janeiro, RJ). A coleta de amostra deformada do horizonte B de Chernossolo e de Latossolo foi realizada próximo à Rua Caminho Rodrigues, no município de Vila Kennedy (Rio de Janeiro, RJ) e na Rodovia Washington Luis (km111) (Duque de Caxias, RJ), respectivamente. Em laboratório, as amostras foram secas à temperatura ambiente e peneiradas a 1,7mm, de forma a remover vegetais e partículas maiores. Os Latossolos correspondem a uma classe de solo extremamente suscetível às ações intempéricas do clima, apresentando características físicas, químicas e mineralógicas que representam de maneira bastante efetiva as ocorrências pedológicas brasileiras. Os Chernossolos apresentam ampla distribuição geográfica na região sul do país, e são largamente utilizados na agricultura de lavouras intensivas, devido à sua elevada fertilidade.

2.2 Caracterização mineralógica

A identificação qualitativa das assembléias minerais da fração argila foi realizada através da técnica de difração de raios-X.

2.3. Determinação de metais pesados

A determinação do teor total de mercúrio (Hg) foi efetuada utilizando o equipamento LUMEX, uma absorção atômica acoplada à técnica de termodesorção. As concentrações dos demais elementos (Cu, Zn, Pb, Ni e Cr) foram determinadas com a pesagem de 1 grama de amostra em béquer de vidro, e posterior solubilização com

40 mL de uma solução composta de ácido fluorídrico (HF), ácido clorídrico (HCl) e ácido perclórico (HClO₄) (2:1:1). A solução obtida foi então aquecida até secar em chapa a 120 °C, sendo retomada com ácido nítrico 5% (HNO₃) para medição na Absorção Atômica (marca Varian, modelo Spectra 55b).

A intensidade da contaminação dos solos acrescidos de LE foi avaliada através da comparação com os valores estipulados por CETESB (2005) e CONAMA (2009). As concentrações de metais no LE foram comparadas àquelas propostas por CONAMA (2006), que estabelece os teores orientadores de elementos metálicos no LE para fins agrícolas.

2.4. Bioensaio agudo com *Daphnia similis*

O bioensaio agudo com *D. similis* foi baseado na exposição de fêmeas de seis a 24 horas de idade a elutriados de misturas de diferentes proporções solo:LE, por um período de 48 horas (ABNT NBR 12713/2004). As referidas proporções foram definidas com bases em trabalhos prévios (Cesar et al. 2008) executados com essas amostras de solo e de LE. Sendo assim, foram estudadas as doses ideais para o uso agrícola do LE (6,66% para o Latossolo, e 6,58% para o Chernossolo), com bases nas recomendações de Tsutiya (2000 *apud* Cesar et al. 2008). As demais doses seguiram uma progressão aritmética desses valores iniciais, sendo obtidas quatro novas amostras (Latossolo: 13,32 -19,98 - 26,64 - 33,33%; e Chernossolo: 13,16 -19,74 - 26,32 - 32,90%).

O procedimento adotado para a preparação dos elutriados está fundamentado nas recomendações de Baun *et al.* (2002), que propõe a agitação orbital (200 rpm) de uma mistura composta de solo:água (1:8) durante um período de 24 horas. Após essa etapa, a mistura é centrifugada (9000 rpm), sendo o sobrenadante filtrado e posteriormente congelado para a avaliação ecotoxicológica. Os elutriados foram preparados com o emprego do meio cultivo de *D. similis*, meio M. S., conforme ABNT NBR 12713/2004. O emprego de elutriados na avaliação ecotoxicológica de solos tratados com LE é amplamente conhecido na literatura científica, e os resultados gerados consistem em bons parâmetros para futuras comparações (Maxam et al. 2000, Fjällborg et al. 2005, Carbonell et al. 2009). A estimativa da concentração de LE capaz de provocar a imobilidade de 50% dos micro-crustáceos (CE50) foi realizada com o auxílio do programa *Trimmed Spearman Karber*.

2.5. Bioensaio crônico com *Pseudokirchneriella subcapitata*

O bioensaio crônico foi baseado na avaliação do crescimento da população de algas expostas a elutriados de diferentes proporções solo:LE. Os testes foram realizados sob temperatura de 23 ± 2°C, iluminação contínua de 3500 lux (± 10%) e velocidade de agitação de ~135rpm. As doses de LE empregadas nos ensaios foram estabelecidas com base nos testes agudos com *D. similis* e, dessa forma, foram testadas somente as doses que não causaram imobilidade aos micro-crustáceos. Os elutriados foram preparados com o meio de cultura utilizado no cultivo das algas, meio L. C. Oligo (ABNT NBR 12648/2005).

Após 96 horas de exposição, procedeu-se com contagem celular de modo a verificar possíveis anomalias na reprodução dos organismos. As biomassas iniciais foram subtraídas daquelas obtidas após 96 horas, e o resultado foi expresso em porcentagem de redução de crescimento (ABNT NBR 12648/2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização mineralógica

A análise dos resultados da difratometria de raios-X mostra que o lodo de esgoto é predominantemente caulinitico, contendo proporções menores de illita, goethita seguida de vermiculita; o Latossolo é representado basicamente por caulinita seguido de gibbsita e goethita; e o Chernossolo é composto predominantemente por vermiculita, seguido de caulinita, interestratificado illita-smectita e illita.

3.2 Determinação de metais pesados

Os teores de metais na amostra de LE revelaram valores em concordância com as concentrações estipuladas por CONAMA (2006) (Tabela 1), sendo este o único documento legal brasileiro que trata do uso do LE como insumo na agricultura. Por outro lado, é importante destacar que estes valores não foram estabelecidos com base em testes ecotoxicológicos, tornando os estudos relacionados ao tema extremamente importantes.

A determinação de metais nos solos acrescidos de LE revelou que os teores de Cu, Zn, Pb e Hg apresentaram não-conformidades em relação aos valores orientadores propostos pela CETESB (2005) e CONAMA (2009) (Tabelas 1 e 2). Todas as doses estudadas indicaram concentrações acima dos valores de referência estipulados pela CETESB (2005) para pelo menos um dos metais supracitados, sugerindo teores acima do *background* pedogeoquímico determinado para o Estado de São Paulo. As duas maiores doses empregadas demonstraram valores de Hg, Zn e Cu acima dos limites de prevenção ambiental, sugerindo a ocorrência potencial de efeitos adversos à saúde da biota terrestre (CETESB, 2005; CONAMA, 2009).

Tabela 1. Teores totais de metais pesados no Latossolo tratado com diferentes doses de lodo de esgoto e na amostra de lodo de esgoto *in natura*.

Doses de lodo de esgoto (%)	Concentrações de metais pesados (mg/kg)					
	Cu	Ni	Cr	Pb	Zn	Hg
0,00	6,80	2,90	7,20	13,00	48,60	0,097●
6,66	19,67	4,25	9,39	20,66●	93,05●	0,21●
13,32	32,53	5,60	11,58	28,32●	137,50●	0,32●
19,98	45,40●	6,96	13,77	35,98●	181,95●	0,44●
26,64	58,27●	8,31	15,96	43,64●	226,40●	0,55●●
33,30	71,14●●	9,66	18,16	51,30●	270,84●	0,66●●
100 (LE <i>in natura</i>)	200,00	23,20	40,10	128,00	716,00	1,80

Notas: (●) indica teores acima do limite de referência; e (●●) teores acima do limite de prevenção.

Tabela 2. Teores totais de metais pesados no Chernossolo tratado com diferentes doses de lodo de esgoto.

Doses de lodo de esgoto (%)	Concentrações de metais pesados (mg/kg)					
	Cu	Ni	Cr	Pb	Zn	Hg
0,00	15,80	1,60	3,10	5,20	40,00	0,032
6,58	27,92	3,02	5,53	13,28	84,48●	0,15●
13,16	40,04●	4,44	7,97	21,36●	128,96●	0,26●
19,74	52,16●	5,86	10,40	29,44●	173,44●	0,38●
26,32	64,28●●	7,29	12,84	37,52●	217,92●	0,50●●
32,90	76,40●●	8,71	15,27	45,60●	262,40●	0,61●●

Notas: (●) indica teores acima do limite de referência; e (●●) teores acima do limite de prevenção.

3.3 Bioensaio agudo com *Daphnia similis*

Os resultados referentes aos bioensaios com *D. similis* revelaram que a dose de LE recomendada para uso em áreas degradadas não causou imobilidade aos organismos testados, em ambas as classes de solos. Por outro lado, o elutriato da amostra de LE *in natura* provocou a imobilidade de 100% dos organismos. Testes estatísticos de regressão linear indicaram relações positivas entre o número de micro-crustáceos imóveis e aumento da dose de LE (Latossolo: $p = 0,007$; Chernossolo: $p = 0,03$), sugerindo a existência de níveis significativos de toxicidade em cenários de acumulações de LE em decorrência de aplicações sucessivas no solo. Neste contexto, o material tóxico poderia sofrer lixiviação e/ou erosão em direção a algum sistema fluvial circunvizinho, prejudicando a saúde da fauna aquática.

Níveis maiores de toxicidade foram observados para as amostras de Latossolo (CE50 = 26,21 %; intervalo de 95% de confiança = 18,50 a 37,14%), em detrimento ao Chernossolo (CE50 = 31,11%; intervalo de 95% de confiança = 25,59 a 37,83%). Silva et al. (2009), ao avaliar a ecotoxicidade aguda dessas amostras utilizando oligoquetas, também observou comportamento semelhante, sugerindo que as propriedades dos solos estudados desempenharam papel importante nos mecanismos de biodisponibilidade.

3.4. Bioensaio crônico com *Pseudokirchneriella subcaptata*

As doses testadas com os bioensaios crônicos utilizando *P. subcaptata* foram 6,66 e 13,32%, para o Latossolo, e 6,58, 13,16 e 19,74%, para o Chernossolo (de acordo com o teste agudo com *D. similis*). Todas as doses testadas com o Latossolo (mesmo aquela recomendada para o uso agrícola, 6,66%) indicaram a ocorrência de efeitos adversos às algas, com inibição significativa da reprodução em relação ao controle (> 50%), sugerindo elevados níveis de ecotoxicidade crônica associada às doses estudadas. Para o elutriato da amostra de LE *in natura*, o número de células ao final do ensaio foi menor do que o inóculo inicial, indicando altos níveis de toxicidade. No Chernossolo, somente a maior dose testada (19,74%) foi capaz de inibir significativamente a reprodução dos organismos (60,1%), sugerindo a ocorrência de efeitos adversos em cenários de acumulações e aplicações sucessivas de LE no solo. Ainda, é importante destacar que as algas clorofíceas representam um nível trófico dos produtores, inferior aos micro-crustáceos (consumidores primários), e dessa forma, danos à

saúde desses organismos podem comprometer seriamente a saúde do ecossistema aquático-fluvial

Estas observações sugerem, a exemplo dos testes realizados com micro-crustáceos, a ocorrência de níveis maiores de ecotoxicidade para o Latossolo, em comparação ao Chernossolo. A presença de argilominerais expansivos (conforme indicou a caracterização mineralógica) parece ter desempenhado papel crucial na redução da ecotoxicidade, possibilitando níveis maiores de reprodução celular nos elutriatos de Chernossolo. Por outro lado, outro atributo que pode ter estimulado níveis menores de toxicidade para o Chernossolo é o seu alto teor de nutrientes, que indicam maior disponibilidade de alimento para os organismos.

4. CONCLUSÕES

A inibição da reprodução das algas e o aumento da imobilidade dos micro-crustáceos nos permite imaginar um cenário no qual a oferta de nutrientes advindos de níveis inferiores da cadeia trófica estaria se tornando escassa, afetando direta, ou indiretamente, os níveis mais elevados da cadeia de tal sorte que os resultados obtidos para a utilização do lodo de esgoto em Latossolo, na dose indicada para áreas de regeneração, e sucessivas aplicações de LE em Chernossolo demonstram a necessidade emergencial na estipulação de novas medidas de referência para o uso do lodo de esgoto no ambiente.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq (PIBIC-UFRJ), pela bolsa concedida; às equipes do LEMA e LECOMIN, especialmente à bióloga Cristiane Moreira; Aos meus orientadores pela oportunidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12648**: Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com algas (chlorophyceae). Rio de Janeiro: ABNT, 2005.

BAUN, A., JUSTESEN, K. B., & NYHOLM, N. Algal tests with soil suspensions and elutriates: A comparative evaluation for PAH-contaminated soils. **Chemosphere**, v.46(2), p.251-258, 2002.

BETTIOL, W. & CAMARGO, O. A. (Ed.). Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. **Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente**, v.1, p.69-105, 2000.

CARBONELL, G., GÓMEZ, J. P. N., BABÍN, M. M., FERNÁNDEZ, C.; ALONSO, E.; TARAZONA, J. V. Sewage sludge applied to agricultural soil: ecotoxicological effects on representative soil organisms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p.1309-1319, 2009.

CESAR, R. G., EGLER, S. G., ALAMINO, R. C. J., POLIVANOV, H.; SILVA, R. C., CASTILHOS, Z. C.; ARAÚJO, P. Avaliação do potencial tóxico de latossolos e chernossolos acrescidos de lodo de esgoto utilizando bioensaios com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências**, v.31 (2), p.53-60, 2008.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acessado em: Março/2010. CETESB, 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 375** de 29 de agosto de 2006. 6p. CONAMA, 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução nº 420** de 28 de Dezembro de 2009. 12p. CONAMA, 2009.

FJÄLLBORG, B., AHLBERG, G., NILSSON, E., DAVE, G. Identification of metal toxicity in sewage sludge leachate. **Environment International**, v.31, p.25-31, 2005.

FJÄLLBORG, B.; LI, B.; NILSSON, E; DAVE, G. Toxicity identification evaluation of five metals performed with two organisms (*Daphnia magna* e *Lactuca sativa*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v.50, p.196-204, 2006.

MAXAM, G., RILA, J., DOTT, W., EISENTRAEGER, A. Use of bioassays for assessment of water-extractable ecotoxic potential of soils. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.45, p.240-246, 2000.

SILVA, M., EGLER, S., CESAR, R. Biodisponibilidade de contaminantes em solos tropicais acrescidos de lodo de esgoto utilizando bioensaios com oligoquetas. Anais da Jornada de Iniciação Científica do CETEM, 2009.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática – Princípios e Aplicações**. 2.ed. Rima, BR. 2006.