UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA HIDRÁULICA E SANEAMENTO

CARINA GRAMINHA ISSA

Testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial impacto ambiental em corpos receptores por efluente de Estação de Tratamento de Esgoto

São Carlos

2019

CARINA GRAMINHA ISSA

Testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial impacto ambiental em corpos receptores por efluente de Estação de Tratamento de Esgoto.

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientador: Prof. Ass. Dr. Juliano José Corbi

VERSÃO CORRIGIDA

São Carlos

2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes da EESC/USP com os dados inseridos pelo(a) autor(a).

II86Ut

Issa, Carina Graminha
Testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial impacto ambiental em corpos receptores por efluente de Estação de Tratamento de Esgoto. / Carina Graminha Issa; orientador Juliano José Corbi. São Carlos, 2019.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento e Área de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, 2019.

1. Toxicidade Ambiental. 2. Esgoto Doméstico. 3. E.T.E.. 4. Chironomus sancticaroli. 5. Daphnia magna. 6. Allonais inaequalis. I. Título.

Eduardo Graziosi Silva - CRB - 8/8907

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Engenheira **CARINA GRAMINHA ISSA.**

Título da dissertação: "Utilização de testes ecotoxicológicos para avaliação de potencial impacto ambiental gerado em corpos receptores por efluente final de estação de tratamento de esgoto".

Data da defesa: 22/03/2019.

Comissão Julgadora:	**Resultado:**
Prof. Associado **Juliano Jose Corbi** **(Orientador)** (Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)	APROVADA
Profa. Dra. **Odete Rocha** (Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)	APROVADA
Prof. Dr. **Nemésio Neves Batista Salvador** (Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)	APROVADA

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:
Prof. Dr. **Eduardo Mario Mendiondo**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:
Prof. Titular **Murilo Araujo Romero**

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Carmen Lucia Graminha Issa e Aparecido Cury Issa, por todo o apoio e carinho não apenas durante o mestrado, mas durante a minha vida, e por nunca me deixarem desistir dos meus sonhos.

Ao meu namorado Renê, por sua companhia, paciência e compreensão nos períodos de felicidade e dificuldade, por todo o amor a mim dado por ele e por não me deixar desistir nos momentos de dificuldade.

À minha irmã Carolina e meu cunhado Lucas pelo apoio, conversas e bons momentos compartilhados e por todo o amor.

Ao meu orientador, professor Juliano Corbi, pela oportunidade de conhecer e trabalhar em uma nova área, na qual me apaixonei, e por todos os conselhos dados durante esse período.

Aos amigos que fiz no LEAA (Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos), Aline Bernegossi, Bruna, Mayara, Mara, Lídia, Bárbara, Camila, Gleyson, Hugo, José, Daniel, pela amizade sincera que conseguimos criar e por toda a ajuda, aconselhamento e bons momentos compartilhados. Ao Wagner, amigo e parceiro que tanto me ajudou durante estes anos.

À Sá e a Priscila, do Departamento de Hidráulica e Saneamento por todos os esclarecimentos e ajuda.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa concedida.

RESUMO

ISSA, C. G. **Testes ecotoxicológicos para avaliação do potencial impacto ambiental em corpos receptores por efluente de Estação de Tratamento de Esgoto**. 2019. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

O crescimento das cidades sem planejamento adequado tem como consequências a ampla geração e incorreta destinação de resíduos sólidos e líquidos e a falta de esgotamento sanitário adequado, resultando em impactos negativos ao meio ambiente e aos corpos hídricos. O esgoto doméstico é composto predominantemente por matéria orgânica, além de nitrogênio, fósforo, organismos patogênicos e elementos potencialmente tóxicos (*e.g.:* fármacos), que podem ou não ser removidos nas estações de tratamento de esgoto. Esse efluente final (esgoto tratado), é encaminhado para o corpo receptor, normalmente um rio ou córrego. Quando não removidos durante os processos de tratamento, os compostos remanescentes no esgoto podem causar alterações físicas, químicas e principalmente biológicas nos corpos receptores. Entre as principais alterações biológicas destaca-se a perda de biodiversidade aquática presente no corpo hídrico receptor. O presente trabalho avaliou o possível impacto ambiental causado pelo efluente final de Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.) em corpos hídricos receptores por meio de testes ecotoxicológicos. Foram selecionadas três estações de tratamento de esgoto, as quais foram avaliadas. Foram coletadas amostras do afluente bruto (P0), efluente final (P1), um ponto a montante (P2) e um ponto a jusante (P3) da mistura do esgoto com o corpo receptor de cada estação. Foram realizados ensaios de toxicidade aguda utilizando as espécies de invertebrados aquáticos *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli, Allonais inaequalis*. Os organismos foram expostos às amostras coletadas para avaliação da sobrevivência. Para a E.T.E. 1, foi constatado adequada eficiência de remoção de toxicidade do esgoto quando comparado o afluente bruto ao efluente tratado, e não foram observados impactos do lançamento do efluente no corpo receptor. A E.T.E. 2, mostrou baixa eficiência de remoção de toxicidade do afluente bruto para o efluente tratado, refletindo em potencial tóxico a longo prazo ao corpo receptor. Da mesma forma, a E.T.E. 3 se mostrou ineficiente para remoção de toxicidade do afluente bruto para o efluente tratado, que refletiu em potencial tóxico ao corpo receptor em longo prazo. De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, ressalta-se a importância da utilização de testes ecotoxicológicos como complementação aos parâmetros físicos e químicos exigidos pela legislação para avaliação da eficiência de remoção de contaminantes presentes no esgoto e que possuem potencial para geração de impacto a curto ou longo prazo à biota aquática presente no corpo hídrico receptor.

Palavras-chave: Toxicidade ambiental. Esgoto doméstico. E.T.E. *Chironomus sancticaroli*. *Daphnia magna*. *Allonais inaequalis.*

ABSTRACT

ISSA, C. G. **Ecotoxicological tests to evaluate the potential environmental impact in receiving bodies by effluent from Sewage Treatment Plant**. 2019. 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2019.

The increase of cities, without adequate planning, results in the wide generation and incorrect destination of solid and liquid wastes and the lack of adequate sanitary structure, resulting in negative impacts on the environment. Domestic sewage is composed predominantly of organic matter, in addition to nitrogen, phosphorus, pathogenic organisms and potentially toxic elements (e.g., drugs), which may or may not be removed at sewage treatment plants. This final effluent (treated sewage) is conveyed to water bodies, usually a river or stream. When not removed during the treatment processes, the remaining compounds in the sewage can cause physical, chemical and especially biological changes in the water bodies. Among the main biological changes is the loss of aquatic biodiversity present in the receiving water body. Thus, the present study evaluated the possible environmental impact caused by the final effluent from Sewage Treatment Plant (S.T.P.) in receiving water bodies by means of ecotoxicological tests. Three sewage treatment stations were selected. Samples of the raw tributary (P0), final effluent (P1) and the upstream (P2) and downstream (P3) points of the sewage mixture with the receiving body of each station were collected. Acute tests were carried out using the aquatic species *Daphnia magna*, *Chironomus sancticaroli*, *Allonais inaequalis*. The organisms were exposed to the samples collected for evaluation of survival in acute tests. For E.T.E. 1, it was found good toxicity removal efficiency of the station when comparing the raw affluent to the treated effluent, and no impacts of effluent release on the receiving body were observed. E.T.E. 2, showed low toxicity removal efficiency from the raw affluent to the treated effluent, reflecting long term toxic potential to the water body. Likewise, E.T.E. 3 was shown to be inefficient to remove toxicity from the raw affluent to the treated effluent, which reflected toxic potential to the water body in long term. According to the results obtained in the present study, the importance of the use of ecotoxicological tests as complementation of the physical and chemical parameters required by the legislation to evaluate the efficiency of removal of pollutants present in the sewage that have potential to generate impact in the short or long term to aquatic biota present in the body water recipient.

Keywords: Environmental toxicity. Domestic sewage. S.T.P. *Chironomus sancticaroli*. *Daphnia magna*. *Allonais inaequalis*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* – (A) Massa ovígera; (B) Ovo com 12 horas; (C) Ovo com 35 horas; (D) Eclosão da larva; (E) Estágio larval; (F) Pupa; (G) Adulto Fêmea; (H) Adulto Macho. 27
Figura 2 – Exemplar de microcrustáceo planctônico da espécie *Daphnia magna.* 29
Figura 3 – Exemplar de oligoqueto aquático da espécie *Allonais inaequalis* 30
Figura 4– Esquema do sistema de tratamento de lodos ativados utilizado na E.T.E. 1. 34
Figura 5- Esquema do sistema de tratamento de lagoa arada – lagoa de decantação/facultativa/maturação utilizado na E.T.E. 2. 34
Figura 6 - Esquema do sistema de tratamento de reator anaeróbio seguido de tratamento físico-químico (decantação/flotação) utilizado na E.T.E. 3. 35
Figura 7 – Pontos considerados para amostragem líquida em cada Estação de Tratamento de Esgoto. 36
Figura 8 – Bandejas plásticas de cultivo de *Chironomus sancticaroli* cobertas por gaiolas de nylon para retenção de organismos adultos. 37
Figura 9 – Béqueres cobertos por filme plástico utilizados no cultivo de *Daphnia magna* e armazenados em incubadora BOD. 38
Figura 10 – Potes plásticos utilizados no cultivo de *Allonais inaequalis* tampados e com aeração constante. 40
Figura 11 – Potes plásticos e béqueres de vidro contendo as amostras coletadas em campo e prontos para receber os organismos-teste. 42
Figura 12 – Carta-controle contendo as concentrações efetivas que causaram imobilidade e/ou mortalidade a 50% dos organismos ao longo do tempo e limites de confiança (± 2 desvios padrão da média) para: (A) *Daphnia magna*; (B) *Chironomus sancticaroli*; (C) *Allonais inaequalis.* 47
Figura 13 – Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa ($p<0,05$) entre medianas para a E.T.E. 1. 49
Figura 14 – Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa ($p<0,05$) entre medianas para a E.T.E. 1. 50

Figura 15 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 2. 52
Figura 16 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 2. 55
Figura 17 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 3. 57
Figura 18 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 3. 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1– Parâmetros de qualidade do efluente para lançamento em corpos hídricos em âmbito federal e estadual. 23
Tabela 2 – Características básicas dos três modelos de Estação de Tratamento de Esgoto avaliados. 33
Tabela 3 – Reagentes utilizados para preparo do meio L. C. oligo utilizado no cultivo da alga da espécie *Raphidocelis. subcapitata.* 39
Tabela 4 – Característica dos testes de toxicidade aguda para as espécies *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli, Allonais inaequalis* e *Lactuca sativa.* 40
Tabela 5 - Características gerais dos testes de sensibilidade para *Chironomus sancticaroli, Allonais inaequalis* e *Daphnia magna.* 43
Tabela 6 – Concentração efetiva que causou imobilidade e/ou mortalidade a 50% dos organismos (LC50) para *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* com limites de confiança (± 2 desvios padrão). 45
Tabela 7 – Sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.), Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 1. 48
Tabela 8 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.) e Allonais inaequalis (A.i.) e*m cada coleta na E.T.E. 1..... 50
Tabela 9 – Sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.), Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 2. 52
Tabela 10 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 2..... 54
Tabela 11 – Sobrevivência (%) para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.) e*m cada coleta na E.T.E. 3. 57
Tabela 12 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.) e*m cada coleta na E.T.E. 3..... 59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 21
2.1. Efluentes sanitários e Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.) 21
2.2. Ecotoxicologia 25
2.3. Organismos-teste 26
2.3.1. *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) 26
2.3.2. *Daphnia magna* (Cladocera: Daphnidae) 28
2.3.3. *Allonais inaequalis* (Oligochaeta: Naididae) 29
2.4. Considerações 30
3. OBJETIVOS 31
3.1. Objetivo geral 31
3.2. Objetivos específicos 31
4. MATERIAIS E MÉTODOS 33
4.1. Áreas de estudo 33
4.2. Pontos de amostragem e preservação do material coletado 35
4.3. Cultivo e manutenção dos organismos-teste 36
4.3.1. *Chironomus sancticaroli* 37
4.3.2. *Daphnia magna* 38
4.3.3. *Allonais inaequalis* 39
4.4. Testes de toxicidade agudo 40
4.5. Testes de sensibilidade 42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 45
5.1. Testes de sensibilidade 45
5.2. Testes de toxicidade agudo 48
5.2.1. E.T.E. 1. 48
5.2.2. E.T.E. 2. 51
5.2.3. E.T.E. 3 56
6. CONCLUSÕES 63

1. INTRODUÇÃO

Com a intensificação do processo de urbanização, os impactos sobre os recursos hídricos decorrentes das atividades humanas e principalmente do lançamento de efluentes sanitários, com ou sem tratamento prévio, têm sido os principais causadores da deterioração da qualidade das águas.

Os esgotos sanitários são todos os produtos gerados em instalações hidráulico-sanitárias de residências, comércios, serviços e indústrias, e apresentam distribuição da composição pouco variável, com predomínio de matéria orgânica, além de, por exemplo, nitrogênio, fósforo, microrganismos patogênicos e elementos potencialmente tóxicos, como fármacos (CALIJURI; CUNHA, 2013). Para que estas águas residuárias possam ser descartadas nos corpos receptores, é necessário o tratamento prévio das mesmas para que atenda a alguns parâmetros exigidos pela legislação. Esse tratamento é feito pela Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.). As E.T.E.s apresentam diferentes processos e operações que visam garantir a adequada remoção dos componentes presentes no esgoto para que atenda ao padrão exigido por lei e possa ser descartado no corpo receptor. Mas, mesmo após o processo de tratamento desse efluentes pela E.T.E., o efluente final ainda conter compostos tóxicos que podem causar impacto no corpo receptor e ainda causar toxicidade à biota aquática (COSTA, 2007).

As análises físicas e químicas exigidas pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) número 430, de 13 de maio de 2011 (CONAMA, 2011) e do Decreto Estadual 8.468 de 8 de setembro de 1976 (SÃO PAULO, 1976), para o descarte de efluente final de estações de tratamento de esgoto em corpos receptores, podem não garantir a preservação da vida aquática. Para que estes impactos ambientais possam ser avaliados, é importante que as estações de tratamento realizem, além das análises exigidas pela legislação, ensaios ecotoxicológicos, que buscam avaliar a capacidade de diferentes agentes tóxicos a causar efeitos deletérios em organismos-teste, pertencentes a diferentes grupos tróficos.

Neste sentido, este projeto apresentou como objetivo, avaliar o potencial impacto ambiental do efluente de diferentes modelos de estações de tratamento de esgoto à biota aquática presente nos corpos receptores, utilizando testes ecotoxicológicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Efluentes sanitários e Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.)

O desenvolvimento dos países, quando acontece de forma acelerada e sem o devido planejamento, gera como consequência, danos ambientais em razão da falta de infraestrutura para o tratamento e destinação de resíduos sólidos e líquidos gerados pelas atividades antrópicas das cidades.

Entre os resíduos líquidos, Metcalf e Eddy (2016) consideram como “esgoto” a água de abastecimento utilizada para diferentes aplicações que, após o uso, passa a conter constituintes que, sem um devido tratamento a tornarão impróprias para a maioria dos usos.

Uma cidade pode conter diferentes formas de contribuição de esgoto advindas de diferentes fontes de contaminação. O esgoto industrial é proveniente dos diversos tipos de indústrias e, antes de ser descartado nas redes coletoras, deve passar por um pré-tratamento para retirada dos principais poluentes presentes em sua composição (e.g.: metais pesados, solventes). Já o esgoto sanitário é proveniente do descarte líquido de residências, comércios, serviços e indústrias, apresentando predomínio de matéria orgânica, microrganismos patogênicos e elementos potencialmente tóxicos (e.g.: fármacos) (VON SPERLING, 2014). O esgoto gerado nas cidades pode ou não ser coletado e passar por um tratamento antes de ser descartado no corpo receptor.

No Brasil, dos 5.570 municípios (aproximadamente 170 milhões habitantes), 43% da população é atendida com rede coletora e estação de tratamento de esgoto, 18% é atendido apenas com rede coletora, sem tratamento, 12% utiliza solução individual (fossa séptica), e 27% não possui atendimento, ou seja, desprovido de rede coletora e tratamento do esgoto gerado. No estado de São Paulo, dos 645 municípios, 64% apresentam coleta e tratamento do esgoto gerado, 3% utilizam solução individual (fossa séptica), 23% possuem sistema de rede coletora, porém não tratam e 9% não apresentam rede coletora ou tratamento (SNIRH, 2017).

Estima-se uma produção de carga orgânica no Brasil de 9,1 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$. Desta produção, apenas 3,9 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$ são coletadas e encaminhadas para tratamento coletivo em E.T.E. e 5,5 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$ podem alcançar os corpos receptores. Já no estado de São Paulo, a produção de carga orgânica é de 2,2 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$, sendo que, cerca de 1,4 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$ são removidas e tratadas e cerca de 985 mil toneladas de $DBO.dia^{-1}$ alcançam os corpos receptores (SNIRH, 2017).

O esgoto, quando coletado e enviado para tratamento, vai para a Estação de Tratamento de Esgoto (E.T.E.), que utiliza diferentes tecnologias e processos (físicos, químicos e/ou biológicos) que visam à remoção dos compostos presentes no esgoto em diversas etapas.

Como primeira etapa, cita-se o tratamento preliminar, que é composto de grades e desarenador, com objetivo de remoção de sólidos grosseiros e materiais rapidamente sedimentáveis. A segunda etapa é chamada de tratamento primário, onde tanques de decantação ou processos anaeróbios (reatores anaeróbios) são utilizados para remover sólidos sedimentáveis que estão em suspensão no meio líquido (VON SPERLING, 2014).

O tratamento secundário, terceira etapa, destina-se à remoção de matéria orgânica dissolvida ou em suspensão no meio líquido e, é comumente realizada por meio de processo biológico realizado por microrganismos que capturam e incorporam os sólidos suspensos e coloidais não sedimentáveis em um floco biológico ou em um biofilme (sistema de lagoas, lodos ativados e variantes, sistemas anaeróbios e aeróbios). Os processos anaeróbios, ao contrário dos aeróbios, são menos efetivos para tratar o efluente de modo a atender padrões de qualidade, necessitando de etapas adicionais para polimento do efluente gerado. Estas etapas podem ser o tratamento secundário e o tratamento terciário, que é utilizado apenas em situações onde há a necessidade de polimento e/ou clarificação do efluente (METCALF; EDDY, 2016).

Para que as estações possam descartar seus efluentes tratados nos corpos receptores, é necessário que atendam a padrões de eficiência mínima de remoção dos compostos presentes no esgoto recebido. A existência destes padrões visa, não só a garantia de qualidade do efluente final, mas também a conservação dos corpos hídricos receptores. Em nível federal, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) através da Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011 (CONAMA, 2011), dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgoto sanitário. Já em nível estadual, Morais e Santos (2019) encontraram em seu estudo, 16 estados que possuem legislação própria sobre lançamento de efluentes, cada uma contendo diferentes restrições sobre padrões e parâmetros de qualidade.

Para o estado de São Paulo, o Decreto nº 8.468, de 08 de setembro de 1976 (SÃO PAULO, 1976), dispõe sobre a prevenção e o controle da poluição do meio ambiente, incluindo padrões de emissão de efluente. Este decreto, mesmo que anterior à resolução Conama, apresenta padrões mais restritivos, principalmente quanto à remoção de DBO. A Tabela 1 apresenta as exigências em âmbito federal e estadual.

Tabela 1– Parâmetros de qualidade do efluente para lançamento em corpos hídricos em âmbito federal e estadual.

Parâmetro	Unidade	Decreto Estadual 8.468/1976	Resolução Conama nº 430
Efeito tóxico agudo a organismos	-	-	efluentes dos sistemas de tratamento de esgoto sanitário poderão ser objeto de teste de ecotoxicidade no caso de presença de características potencialmente tóxicas ao corpo receptor
Materiais flutuantes	-	Ausente	Ausente
Substâncias de gosto ou odor	-	Ausente	-
DBO 5,20	$mg.L^{-1}$ de O2	Max. 60 ou remoção mínima de 80%	Max. 120 ou remoção mínima de 60%
OD	$mg.L^{-1}$ de O2	≥ 0,5	-
pH		Entre 5 e 9	Entre 5 e 9
Temperatura	^{0}C	≤ 40	≤ 40
Nitrogênio amoniacal total	-	-	≤ 20,0
Material sedimentável	$mL.L^{-1}$	Até 1,0	Até 1,0
Fenóis totais	$mg.L^{-1}$ de C_6H_5OH	-	≤ 0,5
Regime de lançamento	-	Vazão máxima de 1,5x a Vazão média do período de atividade diária do agente poluidor	Vazão máxima de 1,5x a Vazão média do período de atividade diária do agente poluidor

Fonte: Adaptado de CONAMA (2011) e São Paulo (1976).

Para cidades que possuem elevada carga poluidora, atender apenas o exigido nos padrões de lançamento pode não ser o suficiente para gerar um efluente tratado aceitável para o lançamento em corpo receptor em termos de remoção de toxicidade para a biota aquática.

De acordo com a Resolução Conama nº 430/2011, a estação de tratamento deve apresentar eficiência de remoção de carga orgânica de, no mínimo, 60% da carga gerada, porém apenas 14% dos municípios brasileiros (769 cidades) apresentam remoção igual ou superior à exigida e 70% (3.889 cidades) apresentam nível de remoção de carga orgânica de, no máximo, 30% da carga gerada. Os 16% restante dos municípios (912 cidades) apresenta nível de remoção de entre 30 e 60% da carga gerada (SNIRH, 2017).

Mesmo que algumas E.T.E.s apresentem elevada eficiência de remoção de carga orgânica e outros compostos, atendendo o exigido pela legislação, a parte remanescente ainda

pode apresentar potencial de impacto ambiental quando incorporada ao corpo hídrico receptor de acordo com sua capacidade de diluição.

Dos 645 municípios localizados no estado de São Paulo, 311 (48%) apresentam capacidade de diluição do esgoto pelo corpo receptor considerado como ótimo, bom ou regular, e 318 (49%) municípios apresentam capacidade de diluição do esgoto ruim ou péssima (SNIRH, 2017)., podendo resultar em comprometimento da qualidade da água e potencial tóxico à biota aquática que ali vive.

Além do apontado acima, de forma geral, Zagatto e Bertoletti (1992; 2008) demonstraram que os sistemas de tratamento não são completamente eficientes para a remoção de toxicidade do efluente, quando diluído ou não, aos organismos presentes nos corpos hídricos receptores, mesmo atendendo os limites estabelecidos nos padrões de emissão.

A seção III, artigo 23 da Resolução CONAMA nº 430/2011 (CONAMA, 2011), diz que os efluentes dos sistemas de tratamento de esgoto sanitário poderão ser objeto de teste de ecotoxicidade no caso de presença de características potencialmente tóxicas ao corpo receptor de acordo com o órgão ambiental competente, com o objetivo de subsidiar ações controladoras nas fontes geradoras de efluentes com características potencialmente tóxicas.

Possetti (2015) e Costa (2007) avaliaram o potencial impacto do efluente de E.T.E. do sistema de lagoas em corpo hídrico receptor por meio da comunidade de macroinvertebrados e de testes ecotoxicológicos, respectivamente. Ambos os autores evidenciaram a ineficiência de remoção de substâncias tóxicas presentes no afluente bruto para o efluente tratado pela E.T.E. e a influência negativa do descarte do efluente tratado no corpo hídrico receptor.

Nogueira Neto (2009), utilizou testes ecotoxicológicos para avaliar a toxicidade aguda e crônica da E.T.E. Novo Horizonte em Jundiaí, e observou que a estação apresentou boa eficiência na redução de toxicidade do seu afluente bruto para o seu efluente tratado, e consequentemente, causando baixa toxicidade aos organismos presentes no corpo receptor.

Não apenas no Brasil, mas também em outros países as estações podem apresentar impacto aos corpos receptores. Chambers e colaboradores (1997) em seu trabalho de revisão encontraram degradação de habitat, contaminação e alteração de abundância e diversidade de organismos aquáticos em diversos corpos receptores após o recebimento de efluente de estação de tratamento de esgoto no Canadá.

Maltby e colaboradores (2000), também encontraram toxicidade do efluente de uma E.T.E. do Reino Unido através de testes ecotoxicológicos e, em estudo realizado *in situ* no

Rio Goyt em Derbyshire, Reino Unido (local onde o efluente é descartado), o ponto a jusante do descarte deste efluente se mostrou extremamente tóxico aos organismos testados.

Considerando os resultados encontrados pelos autores, é possível constatar a necessidade de realização dos testes ecotoxicológicos como complementação das análises já exigidas para investigar os possíveis efeitos do efluente tratado ao meio ambiente e garantir que não haverá danos à biota aquática considerando interações que possam ocorrer entre as substâncias presentes no efluente, a capacidade de diluição do corpo receptor e os organismos presentes.

2.2. Ecotoxicologia

Segundo Costa et al.(2008), existem diferentes ramos da toxicologia, e um, em especial, se ocupa da capacidade tóxica de determinadas substâncias químicas (e seus subprodutos) à saúde e ao bem-estar humano, animal e vegetal, chamada de toxicologia ambiental. Dentro deste seguimento, há a ecotoxicologia, junção da toxicologia com a ecologia, que tem como foco a avaliação de efeitos tóxicos a organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticas e, as interações de substâncias naturais ou sintéticas com o meio no qual se encontram (PLAA, 1982).

Os efeitos tóxicos aos organismos vivos são avaliados por meio de testes ecotoxicológicos realizados em condições específicas e controladas que possuem como objetivo a avaliação da capacidade de efeito nocivo de uma substância natural ou sintética, efluente industrial ou doméstico ou amostras ambientais, a organismos-teste de diferentes grupos em diferentes tempos de exposição (CORBI; GORNI; CORREA, 2015; COSTA et al., 2008). Órgãos estaduais como a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB), nacionais como a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) e internacionais como a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (*Environmental Protection Agency – US.EPA)* e a Organização Internacional de Normatização (*International Organization for Standardization - ISO),* apresentam protocolos padronizados que visam garantir a reprodutibilidade dos ensaios laboratoriais utilizando diferentes organismos-teste e substâncias.

Nos ensaios ecotoxicológicos, os organismos-teste são expostos a uma amostra que contenha uma ou mais substâncias com potencial tóxico por diferentes intervalos de tempo e são observados e quantificados os possíveis efeitos tóxicos produzidos nos organismos

(ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Os ensaios podem ser classificados em agudo e crônico de acordo com o tempo de exposição dos organismos às substâncias.

Os ensaios ecotoxicológicos do tipo agudo são utilizados para estimar os efeitos de letalidade, imobilidade ou inibição do desenvolvimento e crescimento causado por substâncias aos organismos-teste em um curto período de exposição (entre 24 e 120 horas). Os ensaios do tipo crônico apresentam um maior tempo de exposição dos organismos-teste às substâncias, podendo abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo e são utilizados para avaliar possíveis mudanças nas funções biológicas (reprodução, desenvolvimento, crescimento) geradas pelo longo período de exposição à substância estudada (COSTA et al., 2008).

Os organismos mais utilizados em ensaios ecotoxicológicos são as algas, os microcrustáceos, os invertebrados aquáticos e os peixes de águas continentais e marinhas (BALDAN, 2012; COLOMBO-CORBI et al., 2017; CORBI; GORNI; CORREA, 2015; DELL'ACQUA, 2017; DORNFELD, 2006; FONSECA, 1997; HIGASHI, 2016; MELLO, 2015), por apresentarem protocolos padronizados para a realização dos testes ecotoxicológicos e por possuírem as características citadas anteriormente.

2.3. Organismos-teste

Para que se possa escolher um organismo-teste adequado, é necessário o conhecimento da fisiologia, genética e comportamento destes organismos, além de apresentarem: seletividade constante e elevada a contaminantes, elevada disponibilidade e abundância, representatividade, significado ambiental em relação à área de estudo e facilidade de cultivo e de adaptação às condições laboratoriais (COSTA et al., 2008). Além destas características, é importante avaliar a sensibilidade dos organismos-teste quanto sua capacidade de resposta quando expostos ao contaminante a ser estudado. As diferenças entre os organismos vão refletir no modo de resposta dos mesmos quando expostos à diferentes contaminantes.

2.3.1. *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae)

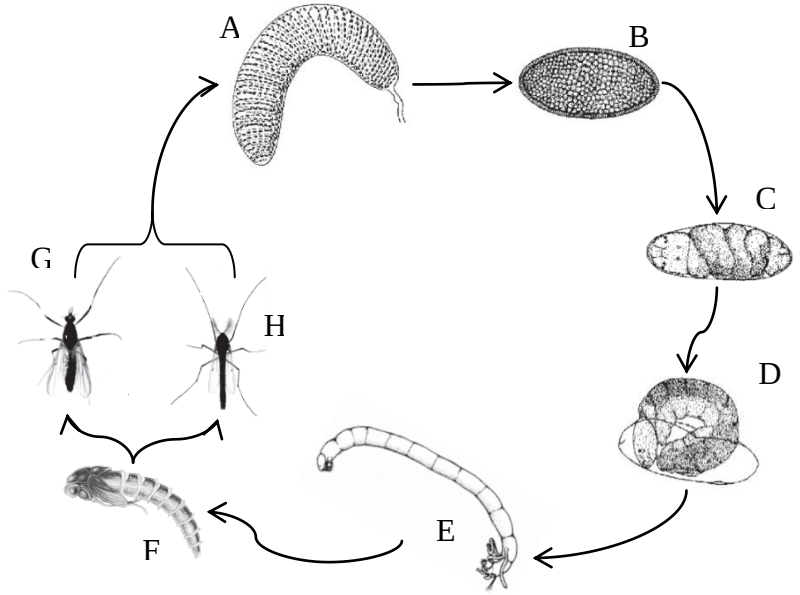
A Família Chironomidae, pertencente à Classe Insecta, Ordem Diptera, é o grupo de inseto aquático mais abundante e diversificado encontrado em ecossistemas de água doce, e possui hábitos bentônicos durante sua fase larval (HIGASHI, 2016; NICACIO; JUEN, 2015; TRIVINHO-STRIXINO; STRIXINO, 1995). Essa família apresenta capacidade de

colonização de sedimentos e vegetação, alta capacidade de adaptação morfológica e fisiológica e pode ser um dos únicos insetos aquáticos presente em ambientes altamente impactados (ARMITAGE; CRANSTON; PINDER, 1995).

Dentro da família Chironomidae há diversas espécies. Muitas dessas são consideradas boas indicadoras de qualidade da água, como por exemplo, os gêneros *Phaenopsectra*, *Stenochironomus*, *Xestochironomus*, *Endotribelos*. Por outro lado, há algumas espécies indicadoras de ambientes impactados, como as do gênero *Chironomus* e alguns *Goeldichironomus*. Há ainda, espécies comumente utilizadas em ensaios ecotoxicológicos, como, por exemplo, *Chironomus tentans*, *Chironomus riparius* e *Chironomus sancticaroli*.

A espécie *C. sancticaroli*, originalmente descrita por Trivinho-Strixino e Strixino (1981) é considerada como sinonímia júnior de *Chironomus xanthus* Rempel 1939 por Speis e Reis (1996), ocorre em todo o Estado de São Paulo, apresentando assim relevância ecológica para o Estado, além de ser de fácil criação em laboratório (VIVEIROS, 2012). São organismos holometábolos, ou seja, têm metamorfose completa, possuindo quatro estágios distintos em seu ciclo de vida – ovo, larva, pupa e adulto – sendo que as fases imaturas são aquáticas enquanto o adulto é terrestre (Figura 1).

Figura 1 – Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* – (A) Massa ovígera; (B) Ovo com 12 horas; (C) Ovo com 35 horas; (D) Eclosão da larva; (E) Estágio larval; (F) Pupa; (G) Adulto Fêmea; (H) Adulto Macho.



Fonte: Adaptado de Hamada, Nessimian e Querino (2014).

Os ovos desta espécie ficam contidos em uma massa gelatinosa com formato tubular e rica em nutrientes que é depositada em ambientes aquáticos onde não há grande movimentação. Após aproximadamente 36 horas de depósito da massa ovígera já é possível observar, por meio de equipamentos específicos, as larvas já formadas e preparadas para se desprender da massa. A eclosão das larvas acontece após aproximadamente 48 horas, e são visíveis apenas com o auxílio de equipamento. O estágio larval possui maior duração e apresenta quatro ínstares. No I ínstar larval, os indivíduos não são visíveis a olho "nu" (observação direta) e apresentam comportamento planctônico. A partir do II ínstar larval, já é possível observar os organismos a olho "nu" e estes passam a ter comportamento bentônico. O estágio de pupa dura poucos dias e os organismos logo se transformam em adultos alados, que se mantém na superfície por um curto período até que suas asas estejam secas. Os adultos da espécie, vivem em torno de dois dias e possuem apenas a função de reprodução (TRIVINHO-STRIXINO, 1980).

As larvas desta espécie são classificadas como organismos tolerantes, sendo capazes de sobreviver por várias horas em condições sem a presença de oxigênio por possuírem hemoglobina na composição de seus corpos, conferindo maior vantagem nas trocas gasosas, e se alimentam de material orgânico sedimentado (ARMITAGE; CRANSTON; PINDER, 1995; CORREIA, 2004). Para os testes de toxicidade crônica, são utilizadas larvas de I ínstar larval que visam avaliar alterações morfológicas e/ou fisiológicas à longo prazo, ou seja, durante o desenvolvimento do organismo, e para os testes de toxicidade aguda, são utilizadas larvas de III a IV ínstar larval com a intenção de avaliar os efeitos a curto prazo.

2.3.2. *Daphnia magna* (Cladocera: Daphnidae)

A espécie *D. magna* pertencente à Classe Crustacea, ordem Cladocera, é um microcrustáceo planctônico que apresenta comprimento aproximado de 5 a 6 mm, atua como consumidor primário e se alimenta por filtração de material orgânico particulado em suspensão, como algas, bactérias e detritos orgânicos presentes na água (ABNT, 2016) (Figura 2).

Figura 2 – Exemplar de microcrustáceo planctônico da espécie *Daphnia magna*.

Fonte: Acervo pessoal da autora (2017).

A reprodução destes organismos se dá predominantemente de forma assexuada, por meio de partenogênese, garantindo a produção de organismos geneticamente similares e com sensibilidade constante, e possuem o corpo coberto por uma carapaça onde os ovos e embriões ficam retidos até seu desenvolvimento para posteriormente serem liberados para a água. Os cladóceros possuem quatro estágios principais: ovo, neonato (juvenis recém liberados com menos de 24 horas de vida), juvenil (após as primeiras 24 horas até o início do desenvolvimento dos ovos) e adulto (primeira liberação de ovos) (MIGUEL, 2016), e são mundialmente utilizadas como organismo-teste devido a sua representatividade na comunidade zooplanctônica, locomoção na coluna d'água, facilidade de cultivo, ciclo de vida curto e sua sensibilidade a diversas classes de compostos químicos (COSTA et al., 2008). Para os testes de toxicidade aguda e crônica, são utilizados neonatos com menos 24 horas de nascimento gerados a partir da 2ª liberação de ovos dos organismos adultos.

2.3.3. *Allonais inaequalis* (Oligochaeta: Naididae)

A. inaequalis é uma espécie de oligoqueto aquático pertencente à família Naididae, que foi descrita pela primeira vez como *Nais pectinata* var. *inaequalis* por Stephenson em 1911 (KATHMAN; WETZEL, 2003) (Figura 3). Vivem tanto na coluna d'água quanto no sedimento, apresenta comprimento corporal que varia entre 3 e 9 mm, não apresenta pigmentação e se reproduz tipicamente por fissão paratômica, onde uma nova cabeça e cauda são intercaladas no meio do corpo dentro da zona de fissão (BELY; SIKES, 2010; BELY;

WRAY, 2001; CORBI; GORNI; CORREA, 2015). Os organismos desta espécie são comumente detritívoros, se alimentam de matéria orgânica sedimentada, vivendo no sedimento ou entre vegetações aquáticas, e algumas espécies podem ser carnívoras ou parasitárias (BELY; WRAY, 2004).

Por possuir ampla distribuição espacial, ser de fácil cultivo em laboratório e apresentar sensibilidade a diferentes substâncias, organismos desta espécie estão sendo cada vez mais recomendados como organismos-teste em ensaios ecotoxicológicos, mesmo não havendo protocolos padronizados ou muitas informações sobre seu ciclo de vida (CORBI; GORNI; CORREA, 2015; ROCHA et al., 2018). Pertence a mesma Classe da espécie *Tubifex tubifex*, que é amplamente utilizada em bioensaios de toxicidade e apresenta protocolos padronizados, que podem servir de base para os testes com *A. inaequalis.*

Figura 3 – Exemplar de oligoqueto aquático da espécie *Allonais inaequalis*

Fonte: Acervo pessoal da autora (2018).

2.4. Considerações

Com base nas informações apresentadas, é possível observar a necessidade dos testes ecotoxicológicos como avaliação complementar do monitoramento das E.T.E., por meio de ensaios utilizando organismos-teste que possuem métodos de vida e desenvolvimento representativos a fim de avaliar a qualidade do tratamento realizado pelas estações em seu efluente e sua possível toxicidade à biota aquática.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o potencial impacto ambiental de efluentes de diferentes estações de tratamento de esgoto à biota aquática por meio de testes ecotoxicológicos.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar o potencial tóxico à montante e à jusante do ponto de descarte do efluente da estação de tratamento de esgoto no corpo receptor para larvas do inseto *C. sancticaroli*, neonatos de microcrustáceo *D. magna*, e indivíduos adultos de oligoqueto aquático *A. inaequalis*;
- Analisar os potenciais efeitos tóxicos agudo causados pelo efluente de estação de tratamento de esgoto em larvas do inseto *C. sancticaroli*, neonatos de microcrustáceo *D. magna*, e indivíduos adultos de oligoqueto aquático *A. inaequalis*;
- Investigar o potencial efeito tóxico agudo do afluente bruto de estação de tratamento de esgoto em larvas do inseto *C. sancticaroli*, neonatos de microcrustáceo *D. magna*, e indivíduos adultos de oligoqueto aquático *A. inaequalis*;Avaliar a efetividade de remoção de toxicidade do afluente bruto para o efluente tratado das estações selecionadas considerando a não toxicidade ou menor efeito tóxico apresentado aos organismos testados;

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Áreas de estudo

A presente pesquisa foi realizada utilizando três estações de tratamento de esgoto localizadas em cidades distintas no estado de São Paulo que possuem diferentes características (Tabela 2).

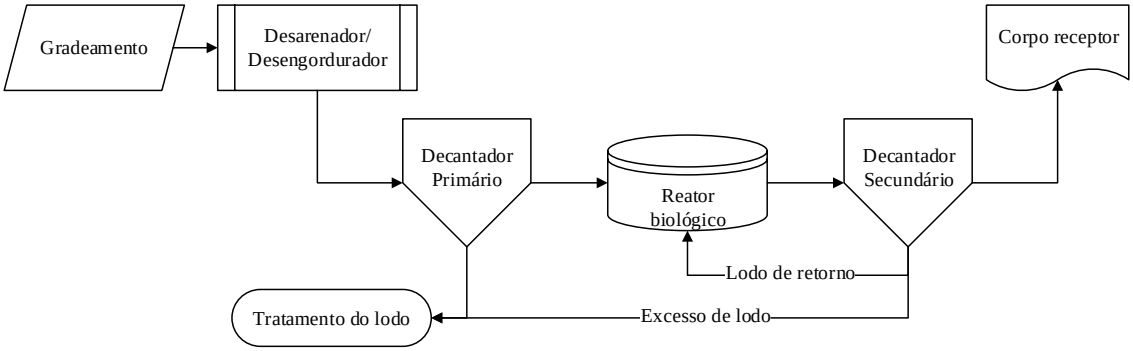
A E.T.E. 1 está localizada em uma cidade que possui cerca de 680.000 habitantes, índice de atendimento com coleta de 97,0% e tratamento de 100,0%, utiliza como processo de tratamento o sistema de lodos ativados (Figura 4) com eficiência de 95,0%, carga poluidora potencial de 36.740,0 kg DBO.dia^{-1} e remanescente de 2.973,0 kg DBO.dia^{-1}. O efluente final da estação é lançado em corpo de água pertencente à classe 4, localizado na UGRHI 4 (SIGRH, 2018).

Tabela 2 – Características básicas dos três modelos de Estação de Tratamento de Esgoto avaliados.

	E.T.E. 1[1]	**E.T.E. 2[2]**	**E.T.E. 3[2]**
População aproximada (habitantes)	680.000	220.000	230.000
Coordenadas geográficas	21º06’21.1” S 47º48’38.3” W	21º49’22.2” S 48º15’10.3” W	22º01’46.3” S 47º55’47.3” W
Índice de atendimento com coleta	97,0%	99,0%	100,0%
Índice de tratamento	100,0%	100,0%	90,7%
Processo de tratamento	Lodos ativados (convencional/deep shaft)	Lagoa aerada + lagoa de decantação/ facultativa/ maturação	Reator anaeróbio + físico químico (decantação/ flotação)
Eficiência	95%	66,1%	90,3%
Carga poluidora potencial (kg DBO.dia^{-1})	36.740,0	11.884,0	12.514,0
Carga poluidora remanescente (kg DBO.dia^{-1})	2.973,0	4.110,0	2.265,0
Classe do corpo receptor	4	4	4
UGRHI	4	13	13

Fonte: [1] - Dados obtidos do SIGRH (2018); [2] - Dados obtidos do SIGRH (2016).

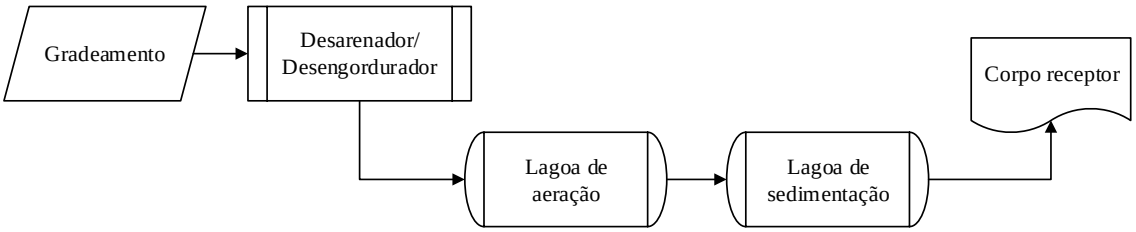
Figura 4– Esquema do sistema de tratamento de lodos ativados utilizado na E.T.E. 1.



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

A E.T.E. 2, está localizada em uma cidade que possui cerca de 220.000 habitantes, com índice de atendimento com coleta de 99,0% e tratamento de 100,0%, utiliza o processo de tratamento de lagoa aerada seguida de lagoa de decantação/facultativa/maturação (Figura 5), com eficiência de 66,1%, carga poluidora potencial de 11.884,0 kg DBO.dia^{-1} e remanescente de 4.110,0 kg DBO.dia^{-1}. O efluente final da estação é lançado em corpo de água pertencente à classe 4, localizado na UGRHI 13 (SIGRH, 2016). Apesar de pertencer a classe 4, com destinação a usos menos exigentes, como navegação e harmonia paisagística, podem ser encontradas represas às suas margens, utilizadas no meio rural para irrigação de pomares e canaviais.

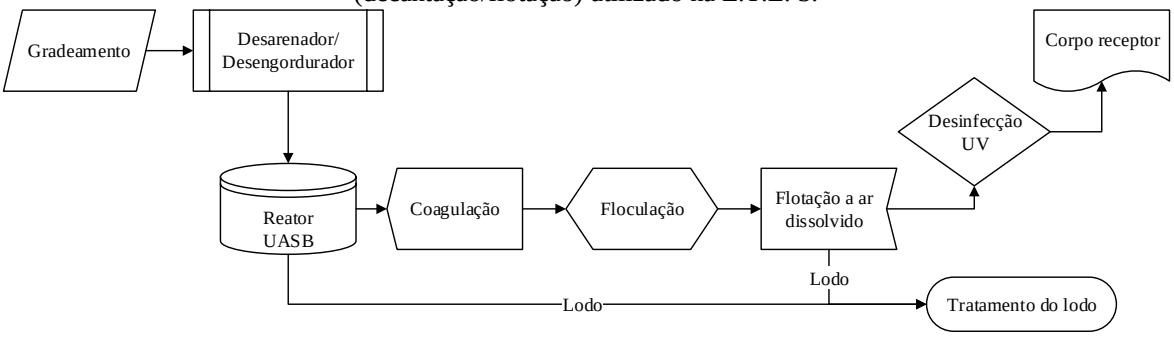
Figura 5- Esquema do sistema de tratamento de lagoa arada – lagoa de decantação/facultativa/maturação utilizado na E.T.E. 2.



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

A E.T.E. 3, está localizada em uma cidade que possui cerca de 230.000 habitantes, índice de atendimento com coleta de 100,0% e tratamento de 90,7%, utiliza o processo de tratamento de reator anaeróbio seguido de tratamento físico-químico (decantação/flotação) (Figura 6) com eficiência de 90,3%, possui carga poluidora potencial de 12.514,0 kg DBO.dia^{-1} e remanescente de 2.265,0 kg DBO.dia^{-1}. O efluente final da estação é lançado em corpo de água pertencente à classe 4, localizado também na UGRHI 13 (SIGRH,2016).

Figura 6 - Esquema do sistema de tratamento de reator anaeróbio seguido de tratamento físico-químico (decantação/flotação) utilizado na E.T.E. 3.

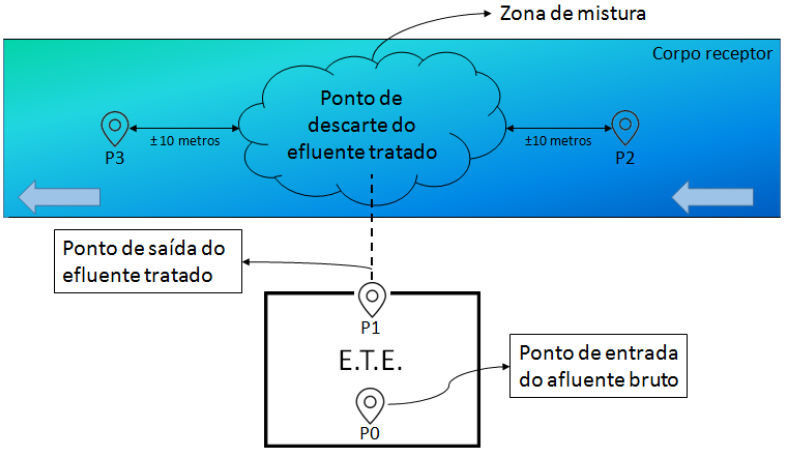


Fonte: Elaborado pela autora (2017).

4.2. Pontos de amostragem e preservação do material coletado

De acordo com recomendações do Guia Nacional de Coletas e Preservação de Amostras (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS - ANA; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB, 2011), a definição dos pontos de amostragem de efluentes líquidos e dos corpos hídricos receptores deve se basear nos objetivos da amostragem. Portanto, foram definidos 4 pontos de coleta (Figura 7): (P0) ponto de entrada do afluente bruto, com o objetivo de avaliar o potencial tóxico do esgoto gerado pelas cidades antes do tratamento; (P1) ponto de saída do efluente tratado do sistema para o corpo receptor, com o objetivo de avaliar a eficiência e funcionamento global do sistema de tratamento quanto à toxicidade de seu efluente; (P2) ponto à montante, aproximadamente 10 metros de distância da zona de mistura do efluente tratado da estação com o corpo receptor, com o objetivo de avaliar possíveis impactos pré - existentes no corpo hídrico; (P3) ponto à jusante, aproximadamente 10 metros de distância da zona de mistura do efluente tratado da estação com o corpo receptor, com o objetivo de avaliar possíveis alterações na qualidade do corpo receptor causada pelo lançamento desse efluente.

Figura 7 – Pontos considerados para amostragem líquida em cada Estação de Tratamento de Esgoto.



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

A preservação do material coletado foi realizada seguindo as recomendações da Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR 15469 (ABNT, 2015). O material coletado foi armazenado em garrafas plásticas de polietileno de alta densidade de 1 litro identificadas com nome da estação de tratamento, a data e a hora da coleta e o ponto coletado. As garrafas contendo as amostras foram armazenadas em caixa de transporte de isopor contendo gelo para que o material pudesse chegar ao laboratório em condições ideais e os testes ecotoxicológicos foram realizados no momento de chegada das amostras ao laboratório. Em casos onde não houve a possibilidade de análise imediata da amostra, a mesma foi armazenada em geladeira com temperatura abaixo de 10ºC, sem congelamento, por no máximo 30 horas a partir da coleta.

Foram realizadas 3 coletas em cada E.T.E. em diferentes épocas, de acordo com a disponibilidade das estações e de organismos para a realização dos testes ecotoxicológicos. Para a E.T.E. 1, as coletas foram realizadas nas seguintes datas: 16/04/2018, 28/08/2018 e 14/11/2018. As coletas na E.T.E. 2 foram realizadas nas datas 20/04/2018, 07/08/2018 e 17/10/2018. Já para a E.T.E. 3 as coletas foram realizadas nas datas de 22/05/2018, 16/10/2018 e 04/12/2018.

4.3. Cultivo e manutenção dos organismos-teste

Os exemplares aquáticos utilizados nos testes ecotoxicológicos foram obtidos em culturas mantidas no Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos (LEAA) da Escola de

Engenharia da Universidade de São Paulo (EESC - USP) na cidade de São Carlos, estado de São Paulo.

4.3.1. *Chironomus sancticaroli*

O cultivo e manutenção da espécie foram realizados seguindo a metodologia adaptada proposta por Fonseca (1997) e Trivinho-Strixino (1980). Os organismos foram mantidos em bandejas plásticas com altura aproximada de 6 cm contendo uma camada de sedimento esterilizado (areia fina comum esterilizada em mufla a 550ºC por uma hora), água de diluição com pH entre 6,5 e 7,5, condutividade entre 25-55 $\mu S.cm^{-1}$ e dureza entre 12 e 16 $mgCaCO_3.L^{-1}$, temperatura da sala controlada em 24 ± 2 ºC, aeração constante, fotoperíodo de 12h luz/ 12h escuro e cobertas por gaiolas de nylon para retenção de organismos adultos (Figura 8). Os organismos foram alimentados uma vez por semana com 22,6 ± 1 mg de ração para peixe triturada da marca TetraMin®.

Figura 8 – Bandejas plásticas de cultivo de *Chironomus sancticaroli* cobertas por gaiolas de nylon para retenção de organismos adultos.

Fonte: Acervo pessoal da autora (2017).

4.3.2. *Daphnia magna*

O cultivo da espécie foi adaptado segundo as recomendações da ABNT (2016). As culturas foram mantidas em béqueres de vidro de 2 L contendo água reconstituída (pH entre 7,6 e 8,0 e dureza total entre 175 e 225 mg $CaCO_3.L^{-1}$) e 40 indivíduos. Os béqueres foram mantidos em incubadora BOD com fotoperíodo de 16h luz/ 8h escuro modelo SL-224 da marca Solab®, com temperatura controlada de 19 ± 2 ºC e coberto por filme plástico para evitar a evaporação do meio de cultura (Figura 9).

Figura 9 – Béqueres cobertos por filme plástico utilizados no cultivo de *Daphnia magna* e armazenados em incubadora BOD.

Fonte: Acervo pessoal da autora (2017).

A água reconstituída foi composta de 73,5 $g.L^{-1}$ de $CaCl_2.2H_2O$, 123,3 $g.L^{-1}$ de $MgSO_4.7H_2O$, 5,8 $g.L^{-1}$ de KCl e 64,8 $g.L^{-1}$ de $NaHCO_3$, dissolvidos em 1 L de água deionizada, conforme recomendações da norma técnica NBR 12713 (ABNT, 2016). Na água de cultivo foram adicionadas as vitaminas Fishtamin® da marca Sera e Prime® da marca Seachem (1 gota de cada para cada 2 litros de água reconstituída) para complementação do meio.

A manutenção da cultura foi realizada semanalmente por três trocas do meio de cultivo, duas totais e uma parcial, seguindo a ordem total, parcial, total, e em cada troca foi fornecido novo alimento. Como alimento utilizou-se suspensão algácea de *Raphidocelis subcapitata* cultivada em meio L. C. oligo contendo os compostos apresentados na Tabela 3 (ABNT, 2018), com os volumes para preparo de 1000 mL, agitado durante uma hora e esterilizado durante 15 minutos a 121 °C, na concentração de 3 x 10^5 células.mL^{-1} e aditivo

alimentar contendo 50 mL de ração fermentada de peixe TetraMin® e 50 mL de solução à base de fermento biológico (0,25g de fermento biológico para 50 mL de água deionizada) na proporção de 1 mL.L^{-1}.

Tabela 3 – Reagentes utilizados para preparo do meio L. C. oligo utilizado no cultivo da alga da espécie *Raphidocelis. subcapitata.*

Solução	Reagente	Quantidade (g)	Preparo	Volume da solução pronta para preparo de 1000 mL do meio de cultivo L.C. oligo
1	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	4	Dissolver em água deionizada para completar 100 mL	1,0
2	KNO_3	10	Dissolver em água deionizada para completar 100 mL	1,0
3	$MgSO_4.7H_2O$	3	Dissolver em água deionizada para completar 100 mL	1,0
4	K_2HPO_4	4	Dissolver em água deionizada para completar 100 mL	1,0
5	$CuSO_4.5H_2O$ $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ $ZnSO_4.7H_2O$ $CoCl_2.6H_2O$ $Mn(NO_3)_2.4H_2O$ $C_6H_8O_7$ H_3BO_3	0.03 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06	Dissolver em água deionizada para completar 1 000 mL	0,5
6	$C_6H_5FeO_7.5H_2O$ $FeCl_3.6H_2O$ $FeSO_4.7H_2O$	1.625 0.625 0.625	Dissolver em água deionizada para completar 1 000 mL	0,5
7	$NaHCO_3$	15	Dissolver em água deionizada para completar 1 000 mL	1,0

Fonte: Adaptado de ABNT (2018).

4.3.3. *Allonais inaequalis*

O cultivo e manutenção de *A. inaequalis* seguiu a metodologia adaptada proposta por Corbi, Gorni e Correa (2015). Os cultivos foram mantidos em potes plásticos com capacidade para 500 mL/ 1 L contendo uma camada de sedimento esterilizado (areia fina comum esterilizada em mufla a 550ºC por uma hora) suficiente para cobrir o fundo do frasco, água de diluição com pH entre 6,5 e 7,5, condutividade entre 25-55 µS.cm^{-1} e dureza entre 12 e 16 mg$CaCO_3$.L^{-1} em no mínimo metade do volume do pote, temperatura da sala controlada em

24 ± 2 ºC, aeração constante, fotoperíodo de 12h luz/ 12h escuro e tampadas para não haver contaminação do cultivo (Figura 10). Os organismos foram alimentados uma vez por semana com 4,8 ± 1,0 mg de ração para peixe triturada da marca TetraMin®.

Figura 10 – Potes plásticos utilizados no cultivo de *Allonais inaequalis* tampados e com aeração constante.

Fonte: Acervo pessoal da autora (2017).

4.4. Testes de toxicidade agudo

A Tabela 4, apresenta de forma resumida a metodologia utilizada para a realização dos testes de toxicidade aguda com *C. sancticaroli*, *D. magna*, *A. inaequalis* e *L. sativa.*

Tabela 4 – Característica dos testes de toxicidade aguda para as espécies *Daphnia magna*, *Chironomus sancticaroli*, *Allonais inaequalis* e *Lactuca sativa.*

	D. magna	***C. sancticaroli***	***A. inaequalis***	***L. sativa***
Frasco	Béquer de vidro de 100 mL	Pote plástico de 500 mL	Béquer de vidro de 100 mL	Placa de petri (100x15mm)
Solução-teste	100 mL	250 mL	100 mL	6 mL
Sedimento	-	50 g	-	-
Organismos por réplica	10	6	6	5
Fase/ Idade	Neonatos com menos de 24 horas	IV íntar	-	-
Número de réplicas	3	3	3	6
Temperatura	19 ± 2 ºC	24 ± 2 ºC	24 ± 2 ºC	24 ± 2 ºC
Fotoperíodo	16h luz/ 8h escuro	12h luz/ 12h escuro	12h luz/ 12h escuro	escuro
Alimentação	-	Apenas no início do teste	Apenas no início do teste	-
Duração do teste	48 horas (2 dias)	96 horas (4 dias)	96 horas (4 dias)	120 horas (5 dias)

Fonte: Elaborado pela autora (2017).

Os testes de toxicidade aguda utilizando larvas de *C. sancticaroli* e o oligoqueto aquático *A. inaequalis* foram realizados seguindo a metodologia proposta por Fonseca (1997) e Corbi, Gorni e Correa (2015) respectivamente com adaptações, a fim de observar a sobrevivência dos organismos. Para cada ponto coletado foram realizados ensaios em triplicata, além do controle contendo apenas água de diluição e alimento. Os testes de toxicidade aguda com *C. sancticaroli* foram realizados em frascos plásticos com capacidade para 500 mL tampados contendo 50 g de sedimento esterilizado, preenchidos com 250 mL de cada amostra coletada e 6 organismos de IV ínstar em cada réplica. Os testes utilizando *A. inaequalis* foram realizados em béqueres de vidro de 100 mL preenchidos com 100 mL da amostra coletada em campo e 6 organismos em cada réplica. Ambos foram alimentados apenas no início do teste com 2,5 ± 0,5 mg de ração para peixe triturada TetraMin®, duração de 96 horas (4 dias), temperatura de 24 ± 2 ºC e fotoperíodo de 12h luz/ 12h escuro (Figura 11). A variável pH foi medida no início e no fim dos testes e, ao final de cada teste, o número de organismos vivos foi contabilizado.

Os testes utilizando o microcrustáceo *D. magna* foram realizados segundo as normas adaptadas da ABNT (2016) com o objetivo de avaliar a taxa de sobrevivência e/ou mobilidade dos organismos. Para cada ponto coletado foram realizados ensaios em triplicata, além do controle contendo apenas água reconstituída. Os testes foram executados em béqueres de 100 mL tampados com plástico filme contendo 100 mL de cada amostra coletada e 10 organismos (neonatos de *D. magna* com menos de 24 horas de idade) em cada réplica, mantidos em incubadora BOD modelo SL-224 da marca Solab, com temperatura controlada de 19 ± 2 ºC, fotoperíodo de 16h luz/ 8h escuro e duração de 48 horas (2 dias) (Figura 11). A variável pH foi medida no início e no fim dos testes e, ao final de cada teste, o número de organismos vivos foi contabilizado.

A classificação do grau de toxicidade das amostras aos organismos foi realizada levando-se em consideração o proposto por Barbosa (2000), onde considera-se: “não - tóxico” quando há a sobrevivência de pelo menos 90% dos organismos; “indício de toxicidade” quando a sobrevivência está no intervalo entre 90< e ≥60% dos organismos; “tóxico” quando a taxa sobrevivência é abaixo de 60%.

Os dados obtidos foram comparados para cada organismo em cada coleta de cada estação utilizando o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis com limite de significância de $p<0,05$ e o auxílio do software PAST 3 (University of Oslo, Oslo, Noruega) para avaliar os pontos que se mostraram significativamente diferentes do controle.

Figura 11 – Potes plásticos e béqueres de vidro contendo as amostras coletadas em campo e prontos para receber os organismos-teste.

Fonte: Acervo pessoal da autora (2018).

4.5. Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade foram executados de acordo com a disponibilidade de organismos. Testes de sensibilidade utilizando *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* foram realizados seguindo a mesma metodologia proposta para os testes de toxicidade aguda utilizando o Cloreto de Potássio (KCl) como substância de referência em diferentes concentrações (2; 4; 6; 8; e 10 $g.L^{-1}$ para *C. sancticaroli;* 1,5; 2,25; 3,5; 5,0; 7,5 $g.L^{-1}$ para *A. inaequalis)* e controle contendo apenas água de diluição e alimento. Foi preparada uma solução estoque de 100 $g.L^{-1}$ de KCl e a partir dela foram feitas diluições em água deionizada para se obter a solução-teste.

Os testes de sensibilidade com *D. magna* seguiram a metodologia utilizada nos testes de toxicidade aguda, utilizando como substância de referência o Sulfato de Cobre pentahidratado ($CuSO_4\ 5H_2O$) em diferentes concentrações (0,01; 0,03; 0,05; 0,10; 0,15 $mg.L^{-1}$) além do controle contendo apenas água reconstituída. Foi preparada uma solução estoque de 10 $mg.L^{-1}$.de $CuSO_4\ 5H_2O$ e a partir dela foram feitas diluições em água reconstituída para se obter a solução-teste.

A Tabela 5 mostra as características gerais dos testes de sensibilidade para *C. sancticaroli*, *A. inaequalis* e *D. magna.*

Tabela 5 - Características gerais dos testes de sensibilidade para *Chironomus sancticaroli*, *Allonais inaequalis* e *Daphnia magna*.

	C. sancticaroli	***A. inaequalis***	***D. magna***
Concentrações	2; 4; 6; 8 e 10 $g.L^{-1}$	1,5; 2,25; 3,5; 5; 7,5 $g.L^{-1}$	0,01; 0,03; 0,05; 0,10; 0,15 $mg.L^{-1}$
Solução-teste	250 mL	100 mL	100 mL
Sedimento	50 g	-	-
Organismos por réplica	6	6	10
Fase/ Idade	IV	-	Neonatos com menos de 24 horas
Número de réplicas para cada concentração	3	3	2
Temperatura	24 ± 2 ºC	24 ± 2 ºC	19 ± 2 ºC
Fotoperíodo	12h luz/ 12h escuro	12h luz/ 12h escuro	16h luz/ 8h escuro
Alimentação	Apenas no início do teste (2,5 ± 0,5 mg)	Apenas no início do teste (2,5 ± 0,5 mg)	-
Duração do teste	96 horas (4 dias)	96 horas (4 dias)	48 horas (2 dias)

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Ao final de cada teste de sensibilidade, a quantidade de organismos vivos foi contabilizada e os resultados foram avaliados estatisticamente com o auxílio de um algoritmo programado na plataforma R 3.5.0 (R Development Core Team, 2018, www.r-project.org) utilizando as extensões MASS e DRC para que fosse encontrada a concentração efetiva que causou imobilidade e/ou mortalidade a 50% dos organismos (LC_{50}). O conjunto de dados obtidos em cada teste foi agrupado e uma carta-controle contendo os resultados foi elaborada. A carta-controle serviu de referência para a utilização dos organismos nos testes ecotoxicológicos.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade realizados para os organismos *D. magna, C. sancticaroli* e *A. inequalis* foram utilizados para o cálculo da LC_{50} para as respectivas substâncias de referência e o gráfico de carta-controle foi desenvolvido e organizado para validação dos dados e obtenção da faixa de sensibilidade dos lotes de organismos utilizados nos testes ecotoxicológicos agudos. A carta-controle foi gerada a partir de testes realizados pelos integrantes do Laboratório de Ecologia de Ambientes Aquáticos (LEAA) no período de 2016 a 2018.

Os intervalos de sensibilidade encontrados para *D. magna* (utilizando o Sulfato de Cobre Pentahidratado – $CuSO_4\ 5H_2O$), *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* (utilizando o Cloreto de Potássio – KCl) estão representados na Tabela 6, e os gráficos de carta-controle podem ser observados na Figura 12.

Tabela 6 – Concentração efetiva que causou imobilidade e/ou mortalidade a 50% dos organismos (LC_{50}) para *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* com limites de confiança (± 2 desvios padrão).

Organismo	Unidade	$\mathbf{LC_{50}}$	Limite de confiança
D. magna	$mg.L^{-1}$ $CuSO_4\ 5H_2O$	0,0509	0,0934 – 0,0083
C. sancticaroli	$g.L^{-1}$ KCl	5,3483	7,4913 – 3,2053
A. inaequalis	$g.L^{-1}$ KCl	3,5002	5,1946 – 1,8058

Fonte: Elaborado pela autora.

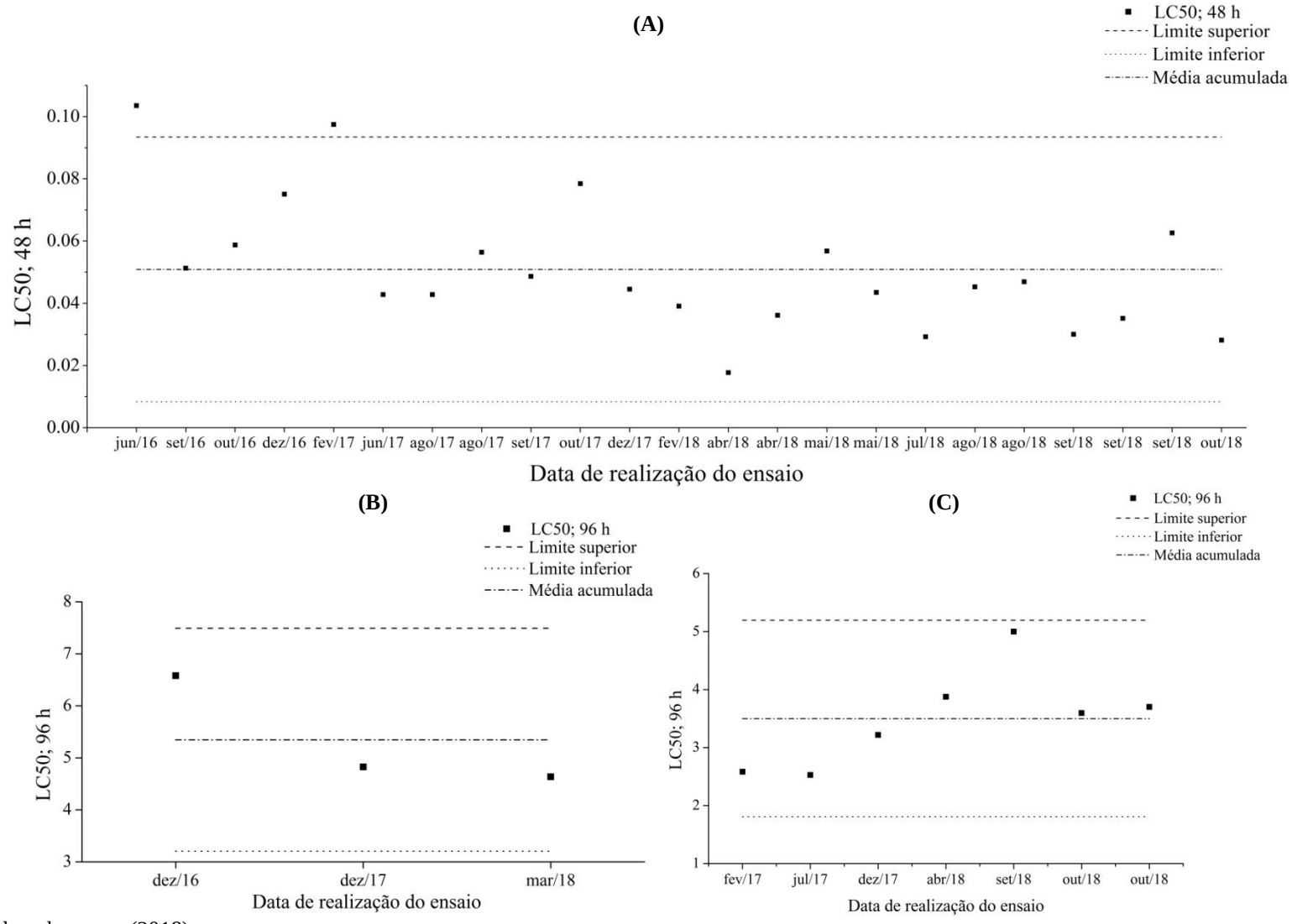
O resultado da média de LC_{50},48 horas para *D. magna* foi de 0,0509 $mg.L^{-1}$, com limites de confiança (± 2 desvios padrão) de 0,0934 e 0,0083 $mg.L^{-1}$. Arauco, Cruz e Machado Neto (2005) também analisaram a sensibilidade de *D. magna* ao Sulfato de Cobre Pentahidratado, e encontraram média de LC_{50},48 horas de 0,045 $mg.L^{-1}$ $CuSO_4\ 5H_2O$. Struewing et al. (2015) obtiveram em sua pesquisa média de LC_{50},48 horas de 0,0546 $mg.L^{-1}$ $CuSO_4\ 5H_2O$. Os valores médios encontrados na literatura foram similares ao encontrado na presente pesquisa, sendo possível a utilização dos organismos para os testes de toxicidade aguda.

Para *C. sancticaroli,* o valor encontrado para a média de LC_{50},96 horas foi de 5,348 $g.L^{-1}$, com limites de confiança de 7,491 e 3,205 $g.L^{-1}$. Fonseca (1997) realizou testes

de sensibilidade para *C. sancticaroli* utilizando o KCl como substância de referência e encontrou valores de LC_{50},96 horas entre 2,6 e 6,4 $g.L^{-1}$ KCl. Bem como Dornfeld (2006), que obteve valores de LC_{50},96 horas entre 3,55 e 5,36 $g.L^{-1}$ KCl. Viveiros (2012) observou valores de LC_{50},96 horas entre 3,83 e 5,33 $g.L^{-1}$ KCl. Os valores encontrados para a faixa de sensibilidade de *C. sancticaroli* na presente pesquisa corroboram com os encontrados na literatura, tornando viável a utilização dos organismos nos testes ecotoxicológicos.

O organismo *A. inaequalis* apresentou média de LC_{50},96 horas de 3,5002 $g.L^{-1}$, com limites de confiança de 5,1946 e 1,8058 $g.L^{-1}$. Corbi, Gorni e Correa (2015) utilizaram o KCl como substância de referência para os testes de sensibilidade com *A. inaequalis* e encontraram valores de média de LC_{50},96 horas de 3,505 $g.L^{-1}$ KCl. Da mesma forma, Higashi (2016) encontrou valores LC_{50},96 horas de 3,5 $g.L^{-1}$ KCl. A média encontrada na presente pesquisa corresponde ao encontrado na literatura, sendo possível a utilização do organismo nos testes ecotoxicológicos.

Figura 12 – Carta-controle contendo as concentrações efetivas que causaram imobilidade e/ou mortalidade a 50% dos organismos ao longo do tempo e limites de confiança (± 2 desvios padrão da média) para: (A) *Daphnia magna*; (B) *Chironomus sancticaroli*; (C) *Allonais inaequalis.*



Fonte: Elaborado pela autora (2018).

5.2. Testes de toxicidade agudo

5.2.1. E.T.E. 1.

A Tabela 7 e Figura 13 apresentam os resultados de sobrevivência obtidos durante os testes ecotoxicológicos para *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* durante as coletas na E.T.E. 1.

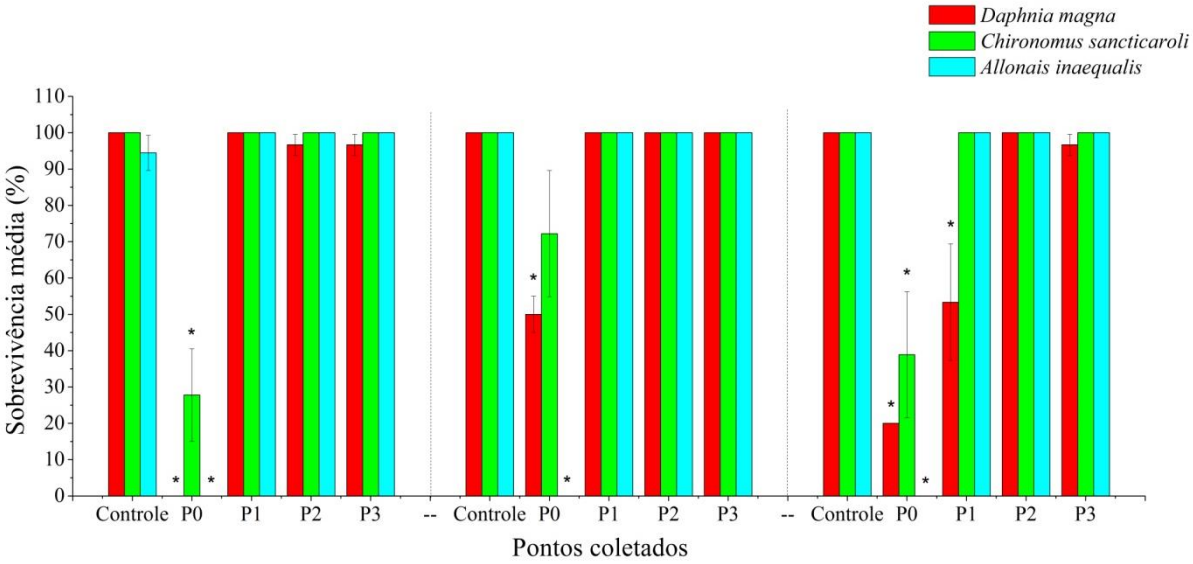
Tabela 7 – Sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.)*, *Chironomus sancticaroli (C.s.)*, *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 1.

	E.T.E. 1		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
	Coleta 1		
Controle	100,00	100,00	94,44
P0	0,00	27,78	0,00
P1	100,00	100,00	100,00
P2	96,67	100,00	100,00
P3	96,67	100,00	100,00
	Coleta 2		
Controle	100,00	100,00	100,00
P0	50,00	72,22	0,00
P1	100,00	100,00	100,00
P2	100,00	100,00	100,00
P3	10000	100,00	100,00
	Coleta 3		
Controle	100,00	100,00	100,00
P0	20,00	38,89	0,00
P1	53,33	100,00	100,00
P2	100,00	100,00	100,00
P3	96,67	100,00	100,00

Verde: Não-tóxico.
Amarelo: Indício de toxicidade.
Vermelho: Tóxico.
- : Não foram realizados testes com o organismo.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Considerando os dados apresentados, é possível observar que nos pontos P2 (montante) e P3 (jusante) para a E.T.E. 1, não foram observados efeitos tóxicos à *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* em nenhuma coleta.

Figura 13 – Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna*, *Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 1.



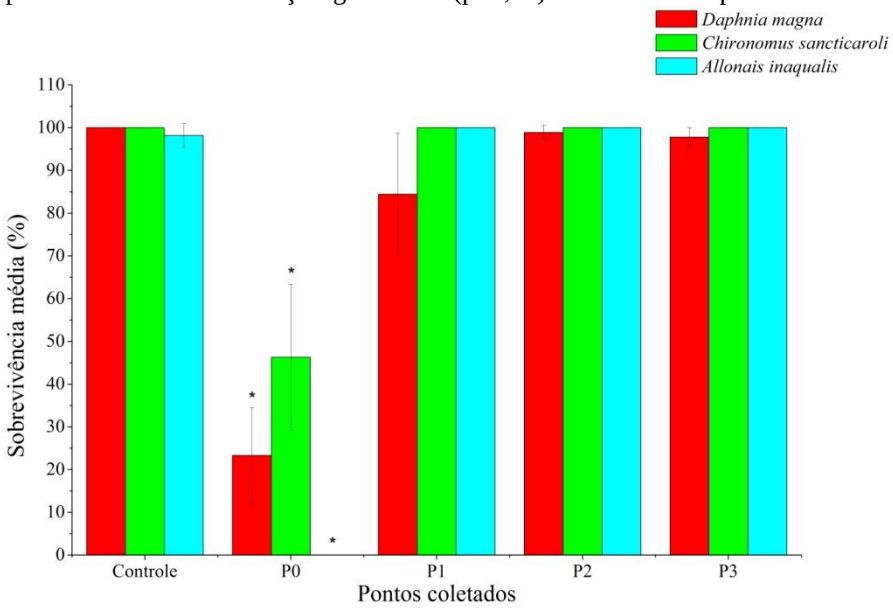
* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e seu respectivo controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

O ponto P0 (afluente bruto) se mostrou com indício de toxicidade aos organismos aquáticos, com sobrevivência média em todas as coletas baixa, além de apresentar diferença significativa entre as medianas quando comparado ao controle.

Já no ponto P1 (efluente tratado), a taxa de sobrevivência média de *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* foi próxima de 100%, com exceção apenas à *D. magna* na amostra da terceira coleta, que se mostrou tóxica apresentando uma sobrevivência média de 53,33%. Houve diferença significativa entre a mediana do ponto P1 para seu respectivo controle durante a terceira coleta apenas para *D. magna*, devido à presença de toxicidade encontrada. Para *C. sancticaroli* e *A. inaequalis*, não foram observadas diferenças significativas entre as medianas do ponto P1 nas coletas e seus respectivos controles.

A Figura 14 apresenta o agrupamento dos dados obtidos nas coletas para todos os organismos testados e os pontos que apresentaram diferença significativa quando comparados ao controle. A Tabela 8 apresenta os dados brutos apresentados na figura.

Figura 14 – Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna*, *Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 1.



* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e seu respectivo controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 8 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.) e Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 1.

	E.T.E. 1		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
Controle	100,00	100,00	98,15
P0	23,33[1]	46,30[1]	0,00[1]
P1	84,44	100,00	100,00
P2	98,89	100,00	100,00
P3	97,78	100,00	100,00

Verde: Não-tóxico.
Amarelo: Indício de toxicidade.
Vermelho: Tóxico.
[1] - pontos que apresentaram diferença significativa no teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para avaliação de não similaridade quando comparado ao controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

De acordo com os dados apresentados acima é possível observar que, de forma geral, as amostras coletadas nos pontos a montante (P2) e a jusante (P3) do descarte do efluente tratado no corpo hídrico receptor da E.T.E. 1 não se mostraram tóxicas a nenhum dos organismos testados. O afluente bruto (P0) se mostrou tóxico a *D. magna*, a *C. sancticaroli* e a *A. inaequalis*, resultando em sobrevivência média de 23,33%, 46,30% e 0,00% respectivamente, e diferença significativa de p = 0,000124 para *D. magna*, p = 0,0004716 para *C. sancticaroli* e p = 0,00005699 para *A. inaequalis* quando comparados ao controle. Após o tratamento, o efluente tratado (P1) não se mostrou tóxico à *C. sancticaroli* e *A.*

inaequalis. Para *D. magna*, foi observado indício de toxicidade, obtendo-se uma sobrevivência média de 84,44%.

Mesmo apresentando indício de toxicidade à *D. magna*, o efluente tratado, de forma geral, não se mostrou tóxico aos organismos, apontando uma boa eficiência de remoção de toxicidade aguda do afluente bruto (P0).

A boa eficiência de remoção de toxicidade encontrada para a E.T.E. 1, pode ser associada ao tipo de tratamento utilizado (sistema de lodos ativados). Esse tratamento possui a presença de: decantador primário, que retém a matéria orgânica (Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO) sedimentável presente no esgoto; reator biológico, onde a matéria orgânica remanescente é metabolizada pelas bactérias do reator, gerando elevada eficiência na remoção de DBO, e possível remoção de Nitrogênio (N) e Fósforo (F); decantador secundário, que finaliza a retenção de biomassa acumulada (lodo). Quando bem operado, o sistema de lodos ativados possui eficiência de tratamento > 90%, sendo capaz de remover do esgoto sanitário da cidade compostos orgânicos e inorgânicos que podem gerar toxicidade aos organismos (VON SPERLING, 2014).

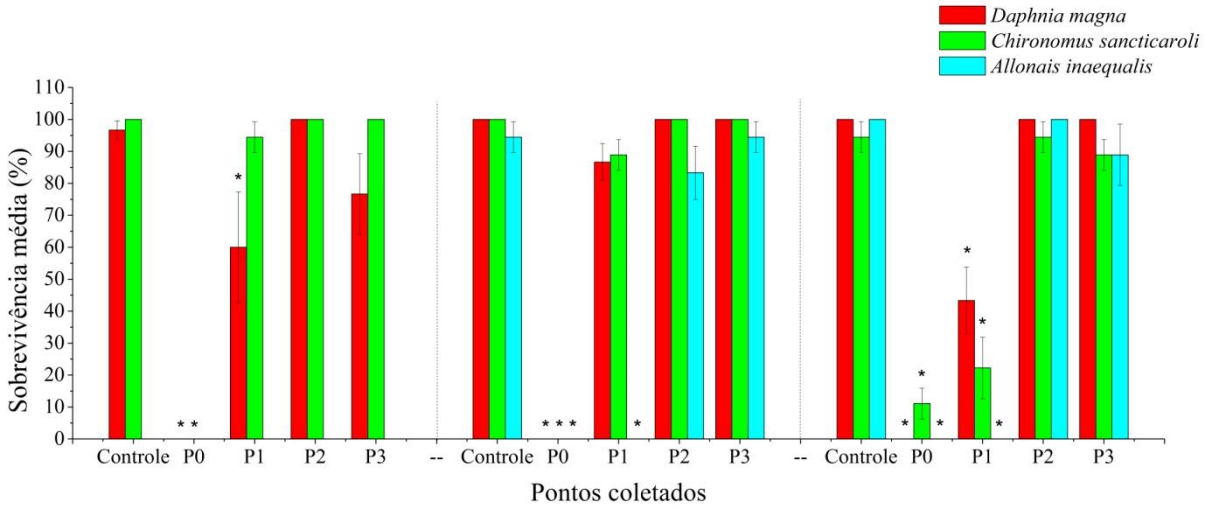
Hamada (2008), avaliando uma E.T.E. com tecnologia de tratamento de lodos ativados também observou redução drástica de toxicidade aguda quando comparado os resultados obtidos nos testes ecotoxicológicos para o afluente bruto e o efluente tratado. Além disso, a autora constatou que o efluente tratado, após incorporado pelo corpo hídrico receptor não apresentou toxicidade aos organismos. À montante do descarte, foi observada pouca ou ausência de toxicidade.

Portanto, de acordo com os resultados encontrados na literatura e no presente estudo, estações de tratamento que utilizam o sistema de lodos ativado apresentam elevada eficiência na redução de toxicidade e, portanto, parecem garantir pouco impacto para a biota após o lançamento do efluente tratado ao corpo hídrico receptor.

5.2.2. E.T.E. 2.

Os resultados obtidos de sobrevivência média de *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* para a E.T.E. 2, durante as coletas estão expressos graficamente na Figura 15 e na Tabela 9. O organismo *A. inaequalis* não foi utilizado com organismo-teste na primeira coleta devido a indisponibilidade de organismos suficientes para aplicação do teste ecotoxicológico.

Figura 15 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna*, *Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 2.



* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e seu respectivo controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 9 – Sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.)*, *Chironomus sancticaroli (C.s.)*, *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 2.

	E.T.E. 2		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
	Coleta 1		
Controle	96,67	100,00	-
P0	0,00	0,00	-
P1	60,00	94,44	-
P2	100,00	100,00	-
P3	76,67	100,00	-
	Coleta 2		
Controle	100,00	100,00	94,44
P0	0,00	0,00	0,00
P1	86,67	88,89	0,00
P2	100,00	100,00	83,33
P3	100,00	100,00	94,44
	Coleta 3		
Controle	100,00	94,44	100,00
P0	0,00	11,11	0,00
P1	43,33	22,22	0,00
P2	100,00	94,44	100,00
P3	100,00	88,89	88,89

Verde: Não-tóxico.
Amarelo: Indício de toxicidade.
Vermelho: Tóxico.
- : Não foram realizados testes com o organismo.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Levando-se em consideração o expresso acima para a E.T.E. 2, foi possível observar para o ponto P0 (afluente bruto), toxicidade aos organismos aquáticos, com exceção de *A. inaequalis*, que não foi utilizado como organismo-teste na primeira coleta. Além da toxicidade apresentada, também foi observado diferença significativa de similaridade do ponto quando comparado ao seu respectivo controle para *A. inaequalis* na segunda e terceira coleta e para *D. magna* e *C. sancticaroli* em todas as coletas, indicando seu potencial tóxico aos organismos.

Para o ponto P1 (efluente tratado), foi observado uma diferença na sobrevivência de *D. magna* e *C. sancticaroli* entre as coletas. Para *D. magna*, foi observado indício de toxicidade do ponto na primeira e segunda coleta e toxicidade na terceira coleta, apresentando sobrevivência média de 60,00%, 86,67% e 43,33% respectivamente. Para *C. sancticaroli*, não foi observado efeito tóxico na primeira coleta, indício de toxicidade na segunda coleta, com sobrevivência média de 88,89%, e efeito tóxico na terceira coleta, sobrevivência média de 22,22%.

Ainda considerando o ponto P1, foi observado também diferença significativa de similaridade do ponto quando comparado a seu respectivo controle para *D. magna* na primeira e terceira coleta, à *C. sancticaroli* apenas na terceira coleta e à *A. inaequalis* na segunda e terceira coleta, apontando a diferença do potencial tóxico do ponto com relação ao controle.

O ponto P2 (montante do descarte) apresentou indício de toxicidade à *A. inaequalis* durante a segunda coleta (sobrevivência média de 83,33%). Para *D. magna* e *C. sancticaroli* não foi observado efeito tóxico.

O ponto P3, por se tratar do ponto à jusante do descarte do efluente tratado, apresentou indício de toxicidade à *A. inaequalis* e *C. sancticaroli* durante a terceira coleta, com sobrevivência média de 88,89% para ambos os organismos e à *D. magna* durante a primeira coleta, com sobrevivência média de 76,67%.

Quando agrupada a sobrevivência média dos organismos para cada ponto da E.T.E. 2 (Tabela 10), foi possível observar que o afluente bruto da estação (P0) se mostrou extremamente tóxico aos organismos aquáticos, apresentando sobrevivência média de 0,00% para *A. inaequalis* e *D. magna* e 3,70% para *C. sancticaroli*. Essa toxicidade presente no afluente bruto é decorrente do esgoto sanitário gerado pela cidade e também pode ser resultante do descarte irregular de diferentes tipos de efluentes na rede coletora de esgoto.

Tabela 10 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.)*, *Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 2.

	E.T.E. 2		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
Controle	98,89	98,15	97,22
P0	0,00[1]	3,70[1]	0,00[1]
P1	63,33[1]	68,52[1]	0,00[1]
P2	100,00	98,15	91,67
P3	92,22	96,30	91,67

Verde: Não-tóxico.
Amarelo: Indício de toxicidade.
Vermelho: Tóxico.
[1] - pontos que apresentaram diferença significativa no teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para avaliação de não similaridade quando comparado ao controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

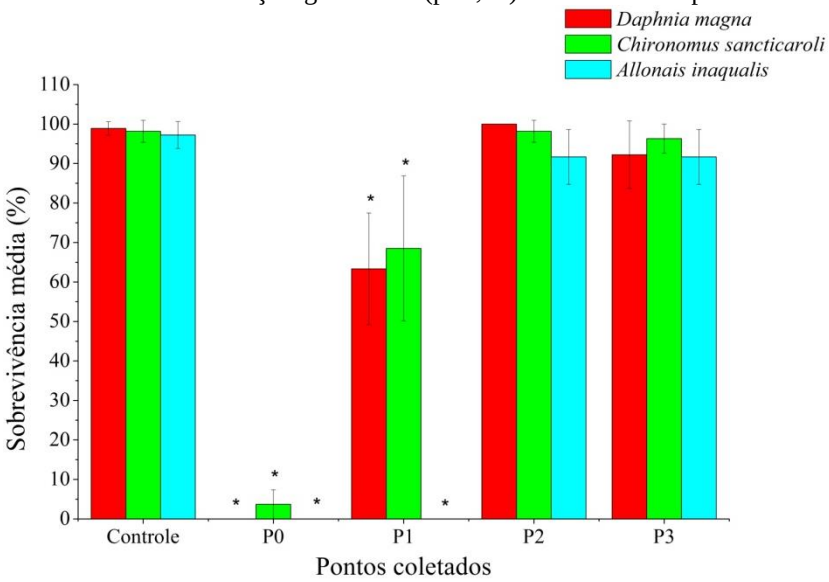
O efluente tratado (P1) apresentou toxicidade extrema à *A. inaequalis*, não havendo sobrevivência do organismo, toxicidade (Tabela 10) e indício de toxicidade à *D. magna* e à *C. sancticaroli*, que apresentaram sobrevivência média de 63,33% e 68,52% respectivamente.

Mesmo após o tratamento, o efluente ainda pode conter agentes tóxicos nocivos aos organismos e apresenta potencial de gerar alterações na qualidade do corpo hídrico receptor e na sobrevivência de espécies que ali existiam antes do seu lançamento.

Além do efeito tóxico, foi observada a diferença significativa de similaridade dos pontos P0 e P1 à *D. magna* ($p = 0,00005699$ e $p = 0,0007494$, respectivamente), *C. sancticaroli* ($p = 0,0001094$ para o ponto P0 e $p = 0,01517$ para o ponto P1) e *A. inaequalis* ($p = 0,001341$ para ambos os pontos) quando comparados aos respectivos controles, indicando o potencial tóxico do afluente bruto e efluente tratado aos organismos aquáticos avaliados (Figura 16).

Apesar de apresentar indício de toxicidade aos organismos em algumas coletas, quando avaliados de forma geral, os pontos P2 e P3 não se mostraram tóxicos à nenhum dos organismos avaliados, garantindo assim a qualidade do corpo hídrico receptor e o não impacto do efluente tratado ao mesmo.

Figura 16 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 2.



* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e o controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Os dados obtidos para o ponto P1 apontam uma baixa eficiência de remoção de substâncias tóxicas presentes no afluente bruto para o efluente tratado que sai da estação. Esta baixa eficiência de remoção de toxicidade pode ter ocorrido devido à configuração da estação, que apresenta como tecnologia de tratamento o sistema de lagoa aerada seguida de lagoa de decantação/ facultativa/ maturação.

Esse sistema é amplamente utilizado em municípios de pequeno e médio porte por possuir como característica sua construção, operação e manutenção relativamente simples com requisitos de área inferiores à outros sistemas. Porém, quando a operação e manutenção do sistema de tratamento de lagoas não são realizadas de forma correta, a estação pode apresentar diversos problemas, como a não degradação da matéria orgânica presente no esgoto pelos organismos aeróbio devido à incorreta oxigenação das lagoas, ao excesso de lodo presente, gerando menor tempo de detenção hidráulica do esgoto nas lagoas, e competição entre os organismos (VON SPERLING, 2014).

Costa (2007) observou em E.T.E. do tipo lagoa aerada – lagoa de sedimentação a variabilidade das características químicas, físicas e biológicas do efluente entre os anos de 2003 e 2004 e constatou uma alteração na toxicidade aos organismos-teste utilizados nos testes ecotoxicológicos, apontando baixa eficiência de eliminação de toxicidade presente no esgoto sanitário pela estação e possibilidade de contribuição desse efluente para degradação do corpo hídrico receptor.

Possetti (2015) também desenvolveu um estudo em E.T.E. do tipo de lagoa aerada – lagoa de sedimentação e observou a variação da comunidade aquática em pontos próximos a nascente do corpo hídrico receptor, à montante e jusante do descarte da E.T.E., e após 8 km do ponto de descarte do efluente tratado. Para o ponto próximo a nascente, por possuir mata preservada, foi encontrado maior riqueza de fauna de macroinvertebrados aquáticos. À montante do descarte do efluente houve uma diminuição da riqueza faunística e desaparecimento de espécies consideradas sensíveis, que pode ter sido ocasionada pela presença de lixo urbano e retirada de matas ciliares. No ponto à jusante do descarte do efluente no corpo hídrico receptor foi constatado o impacto da E.T.E. pela diminuição significativa da riqueza faunística e predominância de organismos tolerantes à poluição. No ponto mais distante do descarte do efluente (8 km) houve uma recuperação do sistema, apresentando aumento na riqueza faunística.

Nogueira Neto (2009) em E.T.E. do tipo lagoa de aeração – lagoa de decantação, utilizando testes ecotoxicológicos, encontrou toxicidade aguda no afluente bruto que chega à estação e indício de toxicidade no efluente tratado, que refletiu no corpo hídrico receptor apresentando baixa mortalidade dos organismos testados possivelmente devido a presença de carga orgânica. Mesmo com o indício de toxicidade no efluente tratado, quando avaliado em relação à redução de toxicidade, a E.T.E. apresentou boa eficiência.

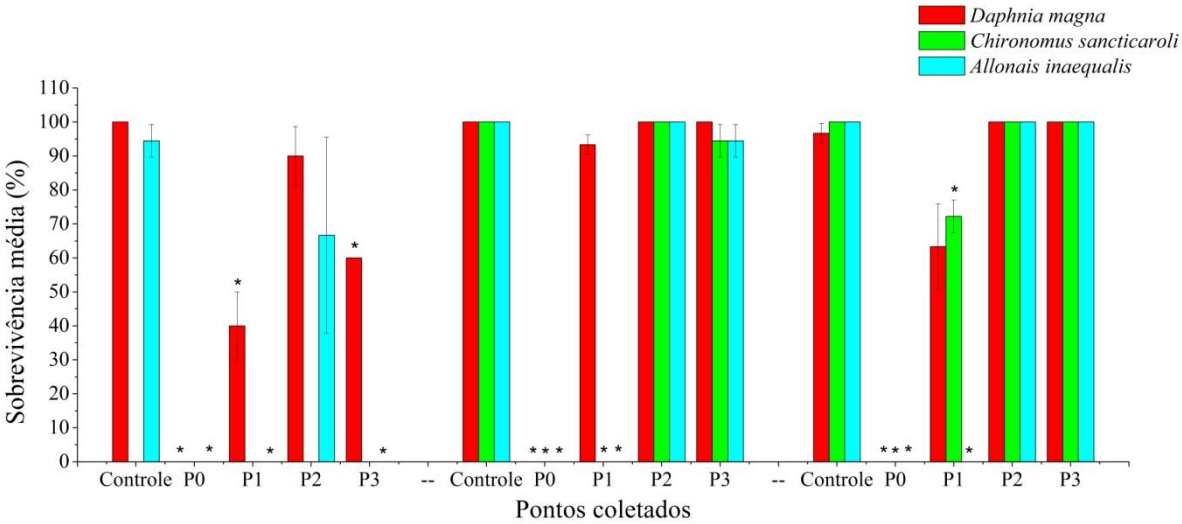
Considerando o encontrado na literatura, os resultados obtidos para a E.T.E. 2, que apresenta sistema de tratamento similar, corroboram com o encontrado pelos autores Costa (2007) e Possetti (2015), indicando que problemas na operação e manutenção da estação podem levar a insuficiência de remoção de substâncias tóxicas presentes no esgoto doméstico pela E.T.E. e possibilidade de impacto a comunidade aquática presente no corpo hídrico receptor e seu entorno, considerando que são encontradas represas às margens do corpo hídrico utilizadas no meio rural para irrigação de pomares e canaviais.

5.2.3. E.T.E. 3

Os resultados obtidos na E.T.E. 3 de sobrevivência média para *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* estão expressos na Figura 17 e a Tabela 11 apresenta resumidamente os dados obtidos para todos os organismos testados na E.T.E. 3. O organismo *C. sancticaroli* não foi utilizado como organismo-teste na primeira coleta devido à indisponibilidade de organismos suficientes para aplicação do teste ecotoxicológico. A

primeira coleta na estação apresentou resposta diferente das outras realizadas na E.T.E. 3 quanto á sobrevivência dos organismos *D. magna* e *A. inaequalis.*

Figura 17 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* para cada coleta nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 3.



* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e o controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Tabela 11 – Sobrevivência (%) para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 3.

	E.T.E. 3		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
	Coleta 1		
Controle	100,00	-	94,44
P0	0,00	-	0,00
P1	40,00	-	0,00
P2	90,00	-	66,67
P3	60,00	-	0,00
	Coleta 2		
Controle	100,00	100,00	100,00
P0	0,00	0,00	0,00
P1	93,33	0,00	0,00
P2	100,00	100,00	100,00
P3	100,00	94,44	94,44
	Coleta 3		
Controle	96,67	100,00	100,00
P0	0,00	0,00	0,00
P1	63,33	72,22	0,00
P2	100,00	100,00	100,00
P3	100,00	100,00	100,00

Fonte: Elaborado pela autora (2018).

De acordo com os resultados obtidos e expressos graficamente acima, é possível observar que o ponto P0 se mostrou tóxico, apresentando sobrevivência nula dos organismos aquáticos em todas as coletas.

Os dados referentes ao ponto P0 apontam a toxicidade presente no afluente bruto da cidade aos organismos e, caso não houvesse tratamento, seu potencial impacto aos corpos hídricos receptores. Além da toxicidade, foi observado no ponto P0 diferença significativa de similaridade de sobrevivência dos organismos *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* quando comparados aos respectivos controles, indicando o potencial tóxico do ponto.

O ponto P1 apresentou alta toxicidade à *A. inaequalis*, não havendo sobrevivência dos organismos no meio em nenhuma das coletas. Para *D. magna*, o ponto apresentou toxicidade durante a primeira coleta, com sobrevivência média de 40,00% e indício de toxicidade na terceira coleta (sobrevivência média de 63,33%).

Já *C. sancticaroli*, quando exposto à amostra do ponto, apresentou alta toxicidade durante a segunda coleta, com sobrevivência nula e indício de toxicidade na terceira coleta, com sobrevivência de 72,22% dos organismos expostos.

O ponto a montante do recebimento do efluente tratado (P2) apresentou indício de toxicidade à *A. inaequalis* durante a primeira coleta apenas, com sobrevivência de 66,67% dos organismos expostos, apontando uma possível alteração nas características qualitativas do corpo hídrico receptor.

O ponto à jusante do descarte (P3) refletiu a toxicidade encontrada no efluente tratado, apontando indício de toxicidade à *D. magna* durante a primeira coleta, com sobrevivência de 60,00% dos organismos expostos.

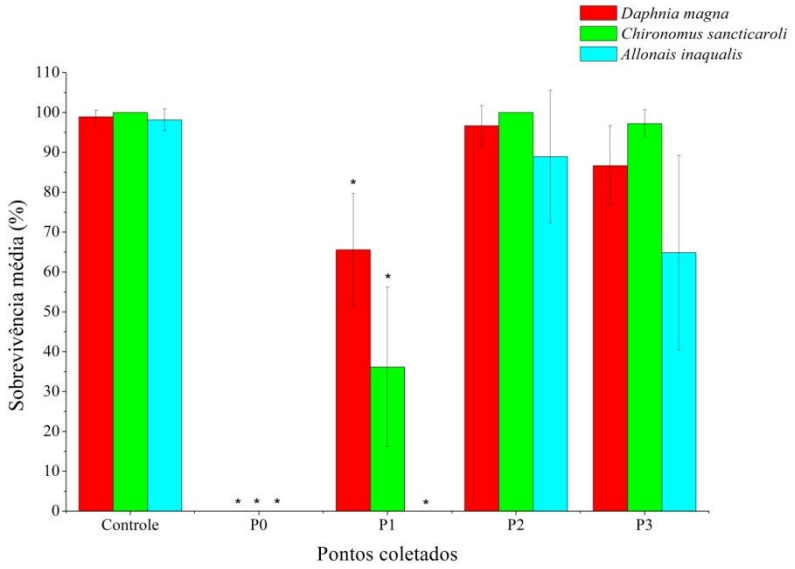
Quando agrupados os dados obtidos em todas as coletas para os organismos, é possível observar mais claramente o impacto do afluente bruto, efluente tratado, que ainda contém agentes tóxicos que inibem a sobrevivência dos organismos testados, e o impacto do efluente contendo os tóxicos ao corpo hídrico receptor (Tabela 12).

Tabela 12 – Média de sobrevivência (%) e grau de toxicidade para *Daphnia magna (D.m.), Chironomus sancticaroli (C.s.)* e *Allonais inaequalis (A.i.)* em cada coleta na E.T.E. 3.

	E.T.E. 3		
	D. m.	*C. s.*	*A. i.*
Controle	98,89	100,00	98,15
P0	0,00[1]	0,00[1]	0,00[1]
P1	65,55[1]	36,11[1]	0,00[1]
P2	96,67	100,00	88,89
P3	86,67	97,22	64,81

Verde: Não-tóxico.
Amarelo: Indício de toxicidade.
Vermelho: Tóxico.
[1] - pontos que apresentaram diferença significativa no teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para avaliação de não similaridade quando comparado ao controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Figura 18 - Sobrevivência média (%) de *Daphnia magna, Chironomus sancticaroli* e *Allonais inaequalis* nos pontos avaliados e diferença significativa (p<0,05) entre medianas para a E.T.E. 3.



* diferença significativa (p<0,05) entre o ponto analisado e o controle.
Fonte: Elaborado pela autora (2018).

Observa-se pela Figura 18 que o afluente bruto (P0), advindo do esgoto doméstico gerado pela cidade, possui toxicidade elevada a todos os organismos testados, apontando sobrevivência nula de organismos aquáticos quando colocados em contato direto com a amostra. Essa toxicidade, quando analisada estatisticamente, aponta a diferença significativa de similaridade do ponto P0 com o controle, que apresenta as condições ideais de sobrevivência dos organismos. Para *D. magna*, foi encontrada uma diferença do controle de p = 0,00005699, para *C. sancticaroli* de p = 0,0009111 e para *A. inaequalis* de p = 0,00005699.

Mesmo após passar por tratamento, o efluente tratado (P1) ainda apresentou toxicidade ou potencial tóxico aos organismos. Para *A. inaequalis*, o efluente tratado (P1) se manteve com toxicidade elevada, não havendo sobrevivência do organismo. Para *C. sancticaroli* e *D. magna*, a sobrevivência mesmo após o tratamento foi baixa (36,11% e 65,55% respectivamente), indicando potencial tóxico do efluente à estes organismos.

Estatisticamente, os resultados encontrados para o ponto P1 aos organismos apontaram diferença significativa de similaridade quando comparado ao respectivo controle, sendo para *D. magna* p = 0,00109, para *C. sancticaroli* p = 0,001885 e para *A. inaequalis* p = 0,00005699. Essa diferença significativa encontrada para os pontos P0 e P1 apontam o potencial tóxico da amostra aos organismos, que quando em condições ideais (controle), não apresentam toxicidade.

O ponto a montante do descarte (P2) não apresentou toxicidade à *D. magna* e à *C. sancticaroli*, porém à *A. inaequalis* foi observado indício de toxicidade do ponto, havendo sobrevivência média de 88,89%. O indício de toxicidade encontrado é relativamente baixo, podendo ter sido causado pela presença de agentes tóxicos no corpo hídrico receptor que geram toxicidade apenas a esse organismo.

Quando avaliado o ponto a jusante do descarte (P3), observa-se um potencial impacto tóxico em longo prazo ao corpo hídrico receptor e aos organismos que ali vivem. Foi encontrado indício de toxicidade do ponto aos organismos *D. magna* e *A. inaequalis*, apresentando sobrevivência média de 86,67% e 64,81%. Para *C. sancticaroli* não foi observado toxicidade.

É possível observar mediante os dados obtidos uma mínima redução de toxicidade do afluente bruto após tratamento, que pode ser associada à problemas de funcionamento da E.T.E. observados durante as coletas de campo. O sistema de tratamento utilizado consiste em: reator biológico UASB, responsável por remover parte da matéria orgânica biodegradável presente no esgoto; coagulação/floculação, aglutinação dos sólidos ainda presentes; flotação por ar dissolvido, para remoção dos sólidos aglutinados e clarificação do efluente; desinfecção UV, que está fora de operação.

Entre os problemas encontrados durante as coletas, estão a falta de funcionamento da etapa de desinfecção e constantes manutenções nas etapas de coagulação/floculação/flotação por ar dissolvido, que são utilizadas como pós-tratamento ao reator UASB para remoção de matéria orgânica remanescente, nutrientes e patógenos que ainda podem estar presentes no esgoto.

Não foram encontrados na literatura, trabalhos similares ao presente para comparação dos resultados obtidos, levando-se em consideração que as estações possuem diferentes composições de pós-tratamento.

Walia, Kumar e Mehrotra (2012) avaliou a eficiência de polimento de efluente sintético em reator UASB com pós-tratamento de difusão de ar, e encontrou uma boa eficiência de remoção de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Demanda Química de Oxigênio (DQO) e provimento de Oxigênio dissolvido (OD), indicando a importância do funcionamento correto das etapas pós reator UASB para remoção de matéria orgânica, inorgânica e outros compostos tóxicos. De acordo com o encontrado por Walia, Kumar e Mehrotra (2012), a ausência ou mal funcionamento de etapas pós reator UASB da E.T.E. 3 podem ter ocasionado a baixa redução da toxicidade e consequente impacto negativo sobre o corpo hídrico receptor e os organismos que ali habitam.

6. CONCLUSÕES

Considerando os trabalhos e os resultados obtidos pela presente pesquisa, é possível observar a importância do bom funcionamento de uma E.T.E., uma vez que, se o afluente bruto não recebe o tratamento adequado dentro da estação, e é descartado no corpo receptor como efluente tratado, as chances de impactos negativos são elevadas. Entre os possíveis impactos gerados, pode-se citar a diminuição da qualidade das águas, modificação ou mortalidade de espécies sensíveis presentes no corpo hídrico e possibilidade de alterações fisiológicas aos organismos.

O afluente bruto (P0) se mostrou extremamente tóxico à *D. magna*, *C. sancticaroli* e *A. inaequalis* em todas as E.T.E.s. O efluente tratado (P1), apresentou toxicidade e indício de toxicidade nas E.T.E.s 2 e 3 à todos os organismos testados, indicando a baixa eficiência de remoção de toxicidade destas estações.

O corpo hídrico à montante da mistura (P2), não apresentou toxicidade, para todos os organismos analisados, possivelmente garantindo assim sua qualidade e a sobrevivência de diferentes espécies de organismos, desde os mais sensíveis até os mais tolerantes.

O ponto P3, à jusante do descarte, apresentou indício de toxicidade na E.T.E. 3 para *D. magna* e *A. inaequalis*, indicando a possível presença de contaminantes no efluente tratado que possam gerar efeito tóxico à longo prazo à estes organismos.

A tecnologia utilizada pela E.T.E. 1, se mostrou eficiente na remoção de toxicidade do afluente bruto para o efluente tratado, e este, quando descartado no corpo receptor, não gerou alterações na qualidade do corpo hídrico receptor com relação a toxicidade aos organismos testados.

A E.T.E. 2, por outro lado, se mostrou ineficiente na remoção de toxicidade do seu afluente bruto, apresentando toxicidade ou indício de toxicidade à todos os organismos testados no efluente tratado, indicando a necessidade de atenção à estação quanto ao seu funcionamento para que não haja efeitos tóxicos a longo prazo ao corpo hídrico receptor.

Da mesma forma, a E.T.E. 3 também se mostrou ineficiente quanto à remoção de toxicidade do afluente bruto, causando efeito tóxico à todos os organismos testados no efluente tratado. Esta estação, também necessita de atenção quanto ao seu funcionamento e manutenção, pois as etapas pós reator UASB são essenciais para a remoção de compostos possivelmente presentes no esgoto, para a melhoria da qualidade do efluente tratado.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras:** água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**.** Brasilia, DF: ANA; São Paulo: CETESB, 2011.

ARAUCO, L.R.R.; CRUZ, C.; MACHADO NETO, J.G. Efeito da presença de sedimento na toxicidade aguda do sulfato de cobre e do triclorfon para três espécies de Daphnia. **Pesticidas**: revista de ecotoxicologia e meio ambiente, v.15, p.55-64, 2005.

ARMITAGE, P.D.; CRANSTON, P.S.; PINDER, L.C.V. **The Chironomidae**: biology and ecology of non-biting midges. Dordrecht: Springer Netherlands, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15469**: Ecotoxicologia - coleta, preservação e preparo de amostras**.** Rio de Janeiro: ABNT, 2015.

_____. **NBR 12713:** Ecotoxicologia aquática - toxicidade aguda - método de ensaio com Daphnia spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

_____. **NBR 12648**: Ecotoxicologia aquática - toxicidade crônica - método de ensaio com algas (*Chlorophyceae*). Rio de Janeiro: ABNT, 2018.

BALDAN, L.T. **Macroinvertebrados em cavas adjacentes ao rio Iguaçu e uso de *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 como potencial bioindicador ambiental**. 2012. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

BARBOSA, R.M. **Avaliação do impacto de lodos de estações de tratamento de água à biota aquática através de estudos ecotoxicológicos**. 2000. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.

BELY, A.E.; SIKES, J.M. Latent regeneration abilities persist following recent evolutionary loss in asexual annelids. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.107, n.4, p.1464-1469, 2010.

BELY, A.E.; WRAY, G.A. Evolution of regeneration and fission in annelids: insights from engrailed- and orthodenticle-class gene expression. **Development,** v.128, n.14, p.2781-2791, 2001.

_____. Molecular phylogeny of naidid worms (Annelida: Clitellata) based on cytochrome oxidase I. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.30, n.1, p.50-63, 2004.

BERTOLETTI, E. **Controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no estado de São Paulo**. 2.ed. São Paulo: CETESB, 2008.

CALIJURI, M.C.; CUNHA, D.G.F. **Engenharia ambiental:** conceitos, tecnologia e gestão. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

CHAMBERS, P. A. et al. Impacts of municipal wastewater effluents on Canadian waters: a review. **Water Quality Research Journal**, v. 32, n. 4, p. 659-714, 1997.

COLOMBO-CORBI, V. et al Genetic diversity loss in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) exposed to Pyrimethanil fungicide: an analysis using RAPD technique. **Water, Air, and Soil Pollution**, v.228, n.10, p.397-399, 2017.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 maio 2011, n.92, p.89.

CORBI, J.J.; GORNI, G.R.; CORREA, R.C. An Evaluation of *Allonais inaequalis* Stephenson, 1911 (Oligochaeta: Naididae) as a toxicity test organism. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v.10, n.1, p.7-11, 2015.

CORREIA, L.C.S. **Contribuição para o conhecimento do gênero *Chironomus* Meigen , 1803 na Região Neotropical**. 2004. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

COSTA, C.R. et al. A Toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quimica Nova**, v.31, n.7, p.1820-1830, 2008.

COSTA, J.B. **Avaliação ecotoxicológica de efluente de tratamento secundário de esgoto sanitário após desinfecção com ácido peracético, cloro, ozônio e radiação ultravioleta.** 2007. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

DELL'ACQUA, M.M. **Efeito do hormônio 17*α*-etinilestradiol sobre a biologia de *Chironomus sancticaroli* (Chironomidae, Diptera)**. 2017. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2017.

DORNFELD, C.B. **Utilização de *Chironomus* sp (Diptera: Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2006.

FONSECA, A.L. **Avaliação da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba/SP através de testes de toxicidade com invertebrados**. 1997. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 1997.

HAMADA, N. **Ensaios de toxicidade empregados na avaliação de efeitos no sistema de tratamento de esgotos e efluentes, ETE Suzano, e seu entorno, utilizando organismos aquáticos**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

HAMADA, N.; NESSIMIAN, J.L.; QUERINO, R.B. **Insetos aquáticos na Amazônia brasileira**: taxonomia, biologia e ecologia. Manaus: INPA, 2014.

HIGASHI, É.S. **Bioensaios de toxicidade da água do efluente de biofiltros em areia como ferramenta de avaliação da qualidade da água**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

KATHMAN, R.D.; WETZEL, M.J. *Allonais inaequalis* (Annelida: Oligochaeta: Tubificidae) in North America. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v.116, n.3, p.548-556, 2003.

MALTBY, L. et al. Using single-species toxicity tests, community-level responses, and toxicity identification evaluations to investigate effluent impacts. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 19, n. 1, p. 151-157, 2000.

MELLO, J.L.S. **Efeitos da presença do fungicida Pyrimethanil na comunidade de macroinvertebrados bentônicos**: estudos *in situ* e laboratoriais. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

METCALF, L.; EDDY, H.P. **Tratamento de efluentes e recuperação de recursos**. 5.ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

MIGUEL, M. **Efeito do hormônio sintético 17alfa-etinilestradiol no invertebrado aquático *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de Sâo Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

MORAIS, N.W.S.; SANTOS, A.B. Análise dos padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos e de reúso de águas residuárias de diversos estados do Brasil. **Revista DAE**, v.67, n.215, p.40-55, 2019.

NOGUEIRA NETO, A.C. **Avaliação de toxicidade aguda e crônica em águas do Rio Jundiaí e em afluentes e efluentes da ETE Novo Horizonte, Jundiaí, São Paulo**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

NICACIO, G.; JUEN, L. Chironomids as indicators in freshwater ecosystems: an assessment of the literature. **Insect Conservation and Diversity**, v.8, n.5, p.393-403, 2015.

PLAA, G.L. Present status: toxic substances in the environment. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v.60, n.7, p.1010-1016, 1982.

POSSETTI, R.B. **Avaliação do impacto da estação de tratamento de esgoto (ETE) do município de Araraquara - SP, no manancial Ribeirão das Cruzes, pela utilização dos macroinvertebrados aquáticos como bioindicadores**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Carlos, 2015.

ROCHA, O. et al. Sensitivities of three tropical indigenous freshwater invertebrates to single and mixture exposures of diuron and carbofuran and their commercial formulations. **Ecotoxicology**, v.27, n.7, p.834-844, Sept. 2018.

SÃO PAULO (Estado). **Decreto nº 8.468, de 08 de setembro de 1976**. Aprova o Regulamento da Lei nº 997, de 31 de maio de 1976, que dispõe sobre a prevenção e o controle da poluição do meio ambiente. Diário Ofical do Estado, São Paulo, 9 set. 1976, Executivo, p.4.

SISTEMA DE INFORMAÇÕES PARA O GERENCIAMENTO DE RECURSOS HÍDRICOS DO ESTADO DE SÃO PAU-LO - SIGRH: Regionalização hidrológica do estado de São Paulo. São Paulo. Disponível em: <http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents//CBH-PARDO/13823/rs_2018_2017_final.pdf>. Acesso em: fev.2019.

SISTEMA DE INFORMAÇÕES PARA O GERENCIAMENTO DE RECURSOS HÍDRICOS DO ESTADO DE SÃO PAU-LO - SIGRH: Regionalização hidrológica do estado de São Paulo. São Paulo. Disponível em: <http://www.sigrh.sp.gov.br/public/uploads/documents/CBH-TJ/11841/2016-12-09-relatorioicompleto.pdf>. Acesso em: fev.2019.

SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES SOBRE RECURSOS HÍDRICOS. **Atlas esgotos**: despoluição de bacias hidrográficas. Disponível em:<http://www.snirh.gov.br/portal/snirh/snirh-1/atlas-esgotos>. Acesso em: 31 out. 2017.

STRUEWING, K.A. et al. Part 2: sensitivity comparisons of the mayfly *Centroptilum triangulifer* to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna* using standard reference toxicants; NaCl, KCl and CuSO4. **Chemosphere**, v.139, p.597-603, 2015.

TRIVINHO-STRIXINO, S. **Estudos sobre a fecundidade de Chironomus sancarlensis sp. n. (Diptera:Chironomidae)**. 1980. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

TRIVINHO-STRIXINO, S.; STRIXINO, G. Nova espécie do gênero *Chironomus* Meigen do sul do Brasil (Diptera: Chironomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.25, n.4, p.333-340, 1981.

_____. **Larvas de Chironomidae (Diptera) do estado de São Paulo**: guia de identificação e diagnose dos gêneros. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, 1995.

VIVEIROS, W. ***Chironomus sancticaroli*** – do cultivo em laboratório ao ensaio ecotoxicológico com amostras ambientais de sedimento. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4.ed. Belo Horizonte: Ed.UFMG, 2014.

WALIA, R.; KUMAR, P.; MEHROTRA, I. Evaluation of polishing of the effluent from UASB reactor by diffusers. **International Journal Environment and Waste Management,** v.9, n.1/2, p.154-168, 2012.

ZAGATTO, P.A. et al. Avaliação de toxicidade em sistema de tratamento biológico de afluentes líquidos.pdf. **Revista da SABESP**, v.166, n.34, p.1-6, 1992.

ZAGATTO, P.A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática**: principios e aplicações. 2.ed. São Carlos: RiMa, 2008.