



"Avaliação do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico Utilizando Indicadores Físico-Químicos e Biológicos"

por

Camille Ferreira Mannarino

Tese apresentada com vistas à obtenção do título de Doutor em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Orientador principal: Prof. Dr. Josino Costa Moreira Segundo orientador: Prof. Dr. João Alberto Ferreira





Esta tese, intitulada

"Avaliação do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico Utilizando Indicadores Físico-Químicos e Biológicos"

apresentada por

Camille Ferreira Mannarino

foi avaliada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Geraldo Lippel Sant'Anna Jr.

Prof. Dr. Daniel Vidal Pérez

Prof. Dr. Sergio Rabello Alves

Prof. Dr. Paulo Rubens Guimarães Barrocas

Prof. Dr. Josino Costa Moreira – Orientador principal





AUTORIZAÇÃO

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Rio de Janeiro, 22 de julho de 2010.
Camille Ferreira Mannarino

CG/Ja

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que sempre acreditaram que eu seria capaz.

AGRADECIMENTOS

Aos orientadores Josino Costa Moreira e João Alberto Ferreira por todos os ensinamentos, críticas, oportunidades e confiança.

A todos os coordenadores de projetos de pesquisa, consultores e pesquisadores participantes do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB 5, tema Resíduos Sólidos, pelas contribuições e críticas a esse trabalho. Agradeço especialmente aos pesquisadores que trabalharam no projeto de pesquisa desenvolvido pela UERJ, de onde esse trabalho de doutorado era parte integrante: Elisabeth Ritter, Daniele Maia Bila, Juacyara Carbonelli Campos, Gandhi Giordano, Lidia Yokoyama e Raquel Simões Oliveira Franco (companheira incansável nos trabalhos de campo).

À FINEP, à Caixa Econômica Federal e ao CNPq pelo apoio financeiro.

À Companhia Municipal de Limpeza Urbana de Niterói – CLIN e a Águas de Niterói pelos dados fornecidos e suporte operacional indispensável à realização desse trabalho.

À equipe do Laboratório de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da Faculdade de Engenharia da UERJ pela realização de análises laboratoriais.

À equipe do Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental do IOC/FIOCRUZ pela realização de ensaios ecotoxicológicos.

À equipe do Laboratório de Ecotoxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ pela realização de análises de biomarcadores. Agradeço pela especial dedicação a esse trabalho a Ione Soares Ferreira Ginuino, Vanessa Gomes Santos, Marina Moreira Freire e Ana Rosa Linde Arias, idealizadora das análises de biomarcadores para esse trabalho.

Aos meus primeiros orientadores de pesquisa, na Faculdade de Educação da UERJ, Maria Julieta Costa Calazans e Victor Novicki, por terem me despertado o interesse para pesquisas, essencial na minha formação e na conclusão desse doutorado.

Aos professores Edith Ione dos Santos Frigotto e Gaudêncio Frigotto, sempre exemplos.

Aos amigos e colegas de turma de doutorado Maria de Lourdes Fernandes Neto e Gilson Spanemberg por terem tornado esses anos de trabalho mais divertidos.

À minha família e aos amigos, que me deram força para fazer concessões em favor da realização do doutorado e que entenderam meus períodos de ausência e ansiedade.

RESUMO

O tratamento e disposição de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos é um grande problema ambiental, com impactos sobre a saúde das populações que vivem em áreas circunvizinhas aos aterros, devido às características poluentes dos lixiviados. Uma solução adotada em muitos países é o tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico em estações de tratamento de esgotos (ETE). A viabilidade dessa opção depende da capacidade da estação de tratamento em assimilar as cargas, sobretudo orgânica e nitrogenada, advindas do lixiviado. No presente trabalho, buscou-se avaliar a eficiência do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico por meio de indicadores biológicos de toxicidade aguda e sub-crônica e não somente por parâmetros físico-químicos de controle de poluição. Foi monitorado o tratamento do lixiviado do aterro do Morro do Céu combinado com esgoto doméstico na ETE Icaraí (Niterói – RJ) e em uma estação de tratamento em escala piloto. Os ensaios ecotoxicológicos agudos, realizados com peixes Danio rerio e microcrustáceos Daphnia similis, mostraram que, embora o lixiviado seja muito mais tóxico a esses organismos do que o esgoto, a mistura do lixiviado ao esgoto não resultou em um afluente ao tratamento mais tóxico do que o esgoto puro. Após o tratamento, o efluente da estação apresentou toxicidade a peixes reduzida em relação ao afluente da mesma e abaixo do limite estabelecido pela legislação ambiental. Não houve redução significativa de toxicidade a microcrustáceos no tratamento empregado na ETE. Biomarcadores indicadores de toxicidade sub-letal foram avaliados em peixes do tipo Tilápia. A concentração de Metalotioneínas não indicou maior presença de metais nos peixes expostos do que nos controles. A atividade da enzima Acetilcolinesterase foi inibida em apenas um dos grupos expostos, indicando possível presença de agrotóxicos organofosforados e/ou carbamatos no efluente tratado. Os HPA's utilizados como biomarcadores (Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno) indicaram que os peixes expostos tiveram maior absorção de HPA's do que os peixes controles, sinalizando a provável presença desses compostos em ao menos um dos afluentes ao tratamento combinado. As frequências de Micronúcleos e outras anormalidade nucleares eritrocitárias também apontaram para maiores danos genotóxicos em células de organismos expostos do que nos controles.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de Lixiviado, Ecotoxicologia, Biomarcadores.

ABSCTRACT

The treatment and disposal of municipal solid waste landfill leachate is a major environmental problem, with impacts on the health of populations living in areas surrounding the landfill due to the pollutants characteristics of leachate. One solution adopted in many countries is the combined treatment of leachate and domestic sewage in sewage treatment plants (STP). The viability of this option depends on the ability of the treatment plant to absorb the loads, especially organic and nitrogen, resulting from the leachate. In this study, we aimed to evaluate the efficiency of the combined treatment of leachate and domestic sewage using biological indicators of acute and subchronic toxicity and not physical and chemical parameters of pollution control. The combined treatment of Morro do Céu landfill leachate with domestic sewage was monitored in Icaraí STP (Niterói - RJ) and in a treatment plant on a pilot scale. The acute toxicological tests conducted with Danio rerio fish and Daphnia similis microcrustaceans showed that, although leachate is much more toxic to these organisms than sewer, the mixture of leachate with sewage did not result in a more toxic inflow for treatment than raw sewage. After treatment, the outflow toxicity complied with the environmental laws. Biomarkers indicators of sub-lethal toxicity were measured in tilapia fish. Metallothioneins did not indicate the presence of metals higher in fish exposed than in controls. Acetylcholinesterase enzyme activity was inhibited in only one of the exposed group, indicating the possible presence of organophosphate and/or carbamates pesticides in treated effluent. The PAH's used as biomarkers (Naphthalene, Pyrene, Benzo(a)pyrene and 1-Hydroxypyrene) indicated that exposed fishes had a greater absorption of PAH's than controls fishes, indicating the likely presence of these compounds in at least one of the inflows to the combined treatment. Frequencies of Micronuclei and other nuclear erythrocyte abnormalities also indicate greater genotoxic damage in cells of organisms exposed than in controls.

KEYWORDS: Leachate Treatment, Ecotoxicology, Biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figuras do Artigo: Assessment of Combined Treatment of Landfill Urban Solid Waste Leachate and Sewage Using <i>Danio rerio</i> and <i>Daphnia similis</i>			
Figure 1 - Graphic distribution of LC50 values for acute toxicity tests with <i>D. rerio</i> - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP61			
Figure 2 - Graphic distribution of LC50 values for acute toxicity tests with <i>D. similis</i> - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP61			
Figuras do Artigo: Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia			
Figura 1 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Metalotioneínas para os grupos avaliados			
Figura 2 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de atividade de Acetilcolinesterase para os grupos avaliados			
Figura 3 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Naftaleno para os grupos avaliados			
Figura 4 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Pireno para os grupos avaliados			
Figura 5 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Benzo(a)pireno para os grupos avaliados			
Figura 6 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de 1-Hidroxipireno para os grupos avaliados			
Figura 7 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de frequência de Micronúcleos para os grupos avaliados.			
Figura 8 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de frequência de Anormalidades Nucleares Eritrocitárias (exceto Micronúcleos) para os grupos avaliados81			
Figuras do Capítulo 5			
Figura 5.1 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Metalotioneínas para os cinco experimentos realizados e grupo Controle			
Figura 5.2 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de atividade de Acetilcolinesterase para os cinco experimentos realizados e grupo Controle			
Figura 5.3 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Naftaleno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle			

Figura 5.4 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Pireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle
Figura 5.5 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Benzo(a)pireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle
Figura 5.6 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de 1-Hidroxipireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle
Figuras do Anexo 1
Figura 1 - Vista aérea do aterro do Morro do Céu
Figura 2 - Vista aérea da ETE Icaraí
Figura 3 - Amostras coletadas para ensaios de caracterização e ensaios de ecotoxicidade aguda. 104
Figura 4 - Peixes <i>Danio rerio</i> em aclimatação em aquário para os ensaios de ecotoxicidade aguda
Figura 5 - Imagem ilustrativa de <i>Daphnia similis</i> usada em ensaios de ecotoxicidade aguda 105
Figura 6 - Estação de tratamento por lodos ativados em escala piloto
Figura 7 - Aquário construído para os ensaios de toxicidade sub-crônica
Figura 8 - Transporte dos peixes Tilápia para os ensaios de toxicidade sub-crônica
Figura 9 - Transporte dos peixes Tilápia para os ensaios de toxicidade sub-crônica
Figura 10 - Medição do comprimento de um peixe Tilápia para avaliação de biomarcadores. 107
Figura 11 - Pesagem de um peixe Tilápia para avaliação de biomarcadores
Figura 12 - Amostras de sangue de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores108
Figura 13 - Amostras de bile de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores
Figura 14 - Amostras de fígado de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores
Figura 15 - Amostras de músculo de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores110
Figura 16 - Imagem de célula de sangue de peixe Tilápia com micronúcleo110

LISTA DE TABELAS

Tabelas do Artigo: Potencialidades do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico como Alternativa para a Solução de Um Grave Problema Ambiental e de Saúde Pública — Revisão Bibliográfica

Tabela 1 - Características físicas e químicas de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos 41
Tabela 2 - Composição química inorgânica de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos. 42
Tabela 3 - Espécies importantes de metais tóxicos em lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos
Tabela 4 - Microrganismos presentes no lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos 43
Tabela 5 - Características físico-químicas do esgoto doméstico típico
Tabela 6 - Microrganismos e parasitas presentes nos esgotos domésticos
Tabela 7 – Estudos de tratamento combinado de lixiviado e esgotos domésticos48
Tabelas do Artigo: Assessment of Combined Treatment of Landfill Urban Solid Waste Leachate and Sewage Using <i>Danio rerio</i> and <i>Daphnia similis</i>
Table 1 - Characterization of leachate from Morro do Céu, contributing sewage, Icaraí STP inflow and outflow.
Table 2 - Range of toxicity factors values for acute toxicity tests with <i>D. rerio</i> and <i>D. similis</i> - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP
Table 3 - Results of the statistical analysis applied to acute ecotoxicity data (LC50) with <i>D. rerio</i> and <i>D. similis</i> of inflowing samples and effluent to Icaraí STP
Tabelas do Artigo: Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia
Tabela 1 - Caracterização do afluente e do efluente da estação de tratamento piloto – valores médios.
Tabela 2 - Resumo das condições de operação dos experimentos de bioensaios
Tabela 3 – Resultados para o monitoramento de peso, comprimento e fator de condição para os grupos avaliados

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

ABRELPE Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais

AChE Acetilcolinesterase

Al Alumínio

ANAMOX Anaerobic Ammonium Oxidation

APHA American Public Health Association (EUA)

As Arsênio

ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry (EUA)

BOD Biochemical Oxygen Demand (Demanda Bioquímica de Oxigênio)

CaCO₃ Carbonato de cálcio

Cd Cádmio

CE50 Concentração de efeito a 50% dos organismos no ensaio

CEO Concentração de efeito observado

Centro de Estudos em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da

CESTEH

ENSP/FIOCRUZ

CETESB Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CH₄ Metano

CL50 Concentração letal a 50% dos organismos no ensaio

CO₂ Gás carbônico

COD Chemical Oxygen Demand (Demanda Química de Oxigênio)

COMLURB Companhia Municipal de Limpeza Urbana (Município do Rio de Janeiro)

CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente

CONSEMA Conselho Estadual do Meio Ambiente (RS)

COPAM Conselho Estadual de Política Ambiental (MG)

COPASA Companhia de Saneamento de Minas Gerais

COT Carbono Orgânico Total

Cr Crômo Cu Cobre

DBO Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO Demanda Química de Oxigênio

ENSP Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz

EPA Environmental Protection Agency (EUA)

ETE Estação de tratamento de esgotos FATMA Fundação do Meio Ambiente (SC) Fe Ferro

FEEMA Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente (RJ)

FF Fluorescência de comprimento de onda fixo

FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz

Hg Mercúrio

H₂S Gás sulfídrico

HPA Hidrocarboneto policíclico aromático

International Agency for Research on Cancer (Agência Internacional de

IARC Pesquisas em Câncer)

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INEA Instituto Estadual do Ambiente do Estado do Rio de Janeiro

LC50 Lethal concentrations at 50% of the organisms in the tests (CL50)

Laboratório de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da Faculdade de

LES Engenharia da UERJ

LOEC Lowest Observed Effect Concentration (concentração de efeito observado)

MN Micronúcleos
MT Metalotioneína

N₂ Nitrogênio molecular

Ni Níquel

N-NH₃ Nitrogênio amoniacal
 N-NO_x Óxidos de Nitrogênio (x)
 NTK Nitrogênio Total Kjeldal

P Fósforo Pb Chumbo

PEAD Polietileno de Alta Densidade

pH Potencial Hidrogeniônico PVC Poli(Cloreto de Vinila)

SABESP Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SFS Espectrometria de Fluorescência Sincronizada

SST Sólidos suspensos totais

STP Sewage treatment plant (estação de tratamento de esgotos)

TDH Tempo de detenção hidráulica

TDS Total Dissolved Solids (sólidos dissolvidos totais)
TSS Total Suspended Solids (sólidos suspensos totais)

TU Toxicity units (unidades de toxicidade)
UERJ Universidade do Estado do Rio de Janeiro

UNT Unidade Nefelométrica de Turbidez

UT Unidades de Toxicidade

Zn Zinco

SUMÁRIO

1	. IN	TRODUÇÃO	1
2	. ОВ	JETIVOS	8
	2.1.	Geral	8
	2.2.	Específicos	8
3	. RE	FERENCIAL TEÓRICO	9
	3.1.	Tratamento Combinado de Lixiviado e Esgoto Doméstico	9
	3.2.	Indicadores Físico-Químicos como Instrumento de Avaliação do Tratamento	
	Comb	vinado de Lixiviado e Esgoto Doméstico	9
	3.3.	Indicadores Biológicos como Instrumento de Avaliação do Tratamento Combinado d	le
	Lixiv	iado e Esgoto Doméstico	13
	3.	3.1. Biomarcadores indicativos de efeitos sub-letais	16
	3.4.	Aterro Controlado do Morro do Céu e Estação de Tratamento de Esgoto de Icaraí –	
	Nitero	ői (RJ)	19
4	. MA	ATERIAIS E MÉTODOS	.22
	4.1.	Monitoramento de Vazões	.22
	4.2.	Monitoramento de Indicadores Físico-Químicos de Controle de Poluição	.22
	4.3.	Monitoramento de Indicadores Biológicos – Ensaios de Ecotoxicidade Aguda	24
	4.4.	Monitoramento de Indicadores Biológicos – Ensaios de Ecotoxicidade Sub-Crônica .	27
	4.	4.1. Estação de Tratamento Combinado em Escala Piloto	28
	4.	4.2. Ensaios de Ecotoxicidade Sub-Crônica - Configuração	29
	4.	4.3. Análises dos Biomarcadores	32
	4.5.	Análises Estatísticas	36
5	. AR	TIGOS DA COLETÊNEA	.38
	5.1.	Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgo	oto
	Domé	éstico como Alternativa para a Solução de Um Grave Problema Ambiental e de Saúde	
	Públio	ca – Revisão Bibliográfica	38
	5.2.	Assessment of Combined Treatment of Landfill Urban Solid Waste Leachate and	
	Sewa	ge Using <i>Danio rerio</i> and <i>Daphnia similis</i>	56
	5.3.	Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterr	
	de Re	síduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia	66

	5.3.1. Considerações Sobre o Artigo "Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamen	
	Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico	em
	Peixes do Tipo Tilápia"	85
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95
4 N	JEYO 1 _ FICURAS II USTRATIVAS	

1. INTRODUÇÃO

A geração de resíduos é inerente a todas as sociedades. Os resíduos sólidos são compostos por tudo o que é considerado inservível ou que não possui mais utilidade e que é descartado na forma daquilo que se conhece popularmente como "lixo".

Os resíduos sólidos refletem os hábitos e costumes de uma sociedade. A geração e a composição dos resíduos sólidos são variáveis de acordo com o poder aquisitivo e o nível educacional da população, o número de habitantes da localidade, condições climáticas, entre outros fatores (Tchobanoglous & Kreith, 2002; COMLURB, 2010; ABRELPE, 2011).

A produção de resíduos sólidos urbanos no Brasil varia em torno de 0,8 a 1,3 kg/hab.dia. A produção nacional diária de resíduos sólidos urbanos pode ser estimada em aproximadamente 195 mil toneladas de resíduos sólidos, que devem ser tratadas e destinadas adequadamente a cada dia (ABRELPE, 2011).

A forma tecnicamente correta de disposição final de resíduos sólidos mais empregada no mundo é por meio da sua disposição no solo, em aterros sanitários. Os aterros sanitários são obras de engenharia e devem seguir as recomendações de normas técnicas específicas.

A disposição inadequada de resíduos no solo em lixões é uma grande fonte de impactos ao meio ambiente, no meio aquático, atmosférico, terrestre, na saúde pública e no meio social e sob a forma de poluição visual e sonora (Sisinno & Oliveira, 2000; Castilhos Jr., 2006). Quando a disposição dos resíduos é feita sob a forma de aterros sanitários, dispositivos de controle ambiental devem ser adotados para minimizar o impacto dessa atividade no meio.

No Brasil, a predominância da disposição final de resíduos sólidos urbanos ainda acontece sob a forma de lixões, sem nenhum tipo de controle ambiental. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico realizada no ano 2000 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 72,3% dos municípios brasileiros dispunham, à época da pesquisa, seus resíduos sólidos em vazadouros a céu aberto, muitas vezes em áreas ambientalmente protegidas (IBGE, 2002).

A Pesquisa Nacional de Saneamento Básico realizada no ano 2008 mostrou que houve uma redução significativa do número de municípios com disposição final de resíduos sólidos em vazadouros a céu aberto. Entretanto, esse tipo de destinação

inadequada ainda está presente em 50,8% dos municípios brasileiros (IBGE, 2010). Aos lixões, podem ser somados muitos aterros classificados como controlados mas que operam em condições precárias, causando também impactos ambientais importantes. De acordo com o IBGE, em 2008, os aterros controlados existiam em 22,5% dos municípios brasileiros (IBGE, 2010).

Existe, todavia, uma tendência de mudança nesse cenário, nos últimos anos, principalmente nas cidades de médio e grande porte do país, com a implantação de novos aterros sanitários. O número de municípios que destinava corretamente os seus resíduos sólidos para aterros sanitários no ano 1989 correspondia a 1,1% do total de municípios brasileiros. No ano 2000, o percentual de municípios com destinação adequada dos seus resíduos sólidos passou para 17,3% e, em 2008, para 27,7% (IBGE, 2010).

Pesquisas realizadas pela Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais - ABRELPE mostram dados de destinação de resíduos sólidos urbanos em peso (toneladas/dia) que confirmam a tendência de construção de aterros sanitários no Brasil. Entre os anos 2003 e 2010, houve um aumento do percentual de resíduos sólidos destinados a aterros sanitários de 40,5% para 57,6% (ABRELPE, 2004; ABRELPE, 2011).

Uma das dificuldades enfrentadas na implantação de aterros sanitários é o tratamento adequado do lixiviado (conhecido popularmente como "chorume" ou "percolado") gerado, o seu lançamento no meio ambiente em atendimento aos padrões estabelecidos pela legislação e a minimização de seus impactos nos ecossistemas.

O lixiviado gerado em aterros sanitários é decorrente da percolação, através das camadas do aterro, de líquidos de origem externa: águas de chuva, escoamento superficial, águas subterrâneas e fontes, da água gerada no processo de decomposição dos resíduos orgânicos (catalisada por enzimas e pela ação das bactérias decompositoras) e da umidade inicial dos resíduos sólidos. No processo de percolação de líquidos através das camadas de resíduos no aterro, ocorre a solubilização de substâncias orgânicas e inorgânicas, formando um novo líquido de composição bastante variável (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

As características do lixiviado são alteradas em função das características dos resíduos dispostos no aterro (composição, teor de umidade, grau de compactação), de fatores relativos à área de disposição de resíduos (permeabilidade do aterro,

escoamento superficial, idade do aterro) e de fatores climáticos (regime de chuvas, temperatura) (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Gomes, 2009).

A composição do lixiviado é determinada sobretudo pelo estágio de decomposição biológica em que os resíduos sólidos se encontram. O processo de decomposição dos resíduos pode ser agrupado em cinco fases: Fase I - fase inicial; Fase II - fase de transição; Fase III - fase ácida; Fase IV - fase de fermentação metanogênica; Fase V - fase de maturação final (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Castilhos Jr., 2003). Em cada fase, a suscetibilidade das substâncias químicas à lixiviação é modificada, alterando a composição do efluente líquido.

A fase inicial caracteriza-se pela presença de oxigênio na região aterrada. Bactérias aeróbias iniciam a decomposição da matéria orgânica biodegradável presente nos resíduos, com produção de gás carbônico (CO₂) e grande liberação de calor. Nessa fase, o lixiviado apresenta altas concentrações de sais de alta solubilidade e sais contendo metais, devido à grande solubilidade de muitos íons em temperaturas elevadas (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Almeida & Vilhena 2000; Castilhos Jr., 2003).

A fase de transição começa quando há redução do oxigênio disponível e condições anaeróbias começam a se desenvolver. O aceptor de elétrons é alterado de oxigênio a nitratos e sulfatos. O meio apresenta tendências a condições redutoras (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Castilhos Jr., 2003).

Na fase ácida, atuam bactérias facultativas e anaeróbias. Devido à ação dos microorganismos, são produzidos compostos orgânicos simples e de alta solubilidade, principalmente ácidos graxos voláteis e ácidos fúlvicos. O gás carbônico é o principal gás gerado na fase ácida. Os ácidos reduzem o pH do lixiviado, liberando gases, como o gás sulfídrico (H₂S), causadores de odores desagradáveis. O lixiviado apresenta, nessa fase, grande quantidade de matéria orgânica dissolvida, com altos valores de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Almeida & Vilhena 2000; Castilhos Jr., 2003).

Na fase de fermentação metanogênica, as arqueas metanogênicas, na ausência de oxigênio, consomem os compostos orgânicos simples formados na fase anterior. Há formação de metano (CH₄) e gás carbônico. Devido ao consumo dos ácidos voláteis, o pH do lixiviado se eleva para próximo da neutralidade. A DBO, na fase metanogênica, é baixa enquanto a DQO continua relativamente elevada, indicando uma menor biodegradabilidade do lixiviado. Isso explica a alta recalcitrância de lixiviados de

formação antiga e a pouca eficiência no seu tratamento por meio de processos biológicos (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Almeida & Vilhena 2000; Castilhos Jr., 2003).

A última fase de decomposição dos resíduos é a fase de maturação final. A produção de gás é reduzida significativamente porque a maior parte dos nutrientes presentes na massa sólida foi removida nas fases de decomposição anteriores. Substâncias orgânicas de baixa biodegradabilidade restantes no aterro são convertidas em moléculas como ácidos húmicos. Elevadas concentrações de ácidos húmicos e fúlvicos são encontradas no lixiviado, o que dificulta o seu tratamento por processos biológicos (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Castilhos Jr., 2003).

Durante a vida de um aterro, é usual se ter as cinco fases de decomposição da matéria orgânica acontecendo simultaneamente, uma vez que coexistem resíduos depositados há muitos anos e outros dispostos recentemente.

O potencial poluidor do lixiviado está ligado principalmente aos altos valores de carga orgânica que apresenta, o que leva à redução do oxigênio disponível em cursos d'água com que tenha contato, prejudicando a fauna e a flora nesses meios. Pode ainda haver a incorporação de substâncias tóxicas dissolvidas ou em suspensão cujas características apresentem risco de contaminação para os ecossistemas locais e à saúde humana (Tchobanoglous *et al.*, 1993). Dessa forma, as características do lixiviado exigem que o mesmo seja tratado antes de ser lançado no meio ambiente.

O tratamento do lixiviado pode ser feito no próprio aterro ou por meio da descarga do mesmo em um sistema externo de tratamento. Destacam-se entre os processos utilizados para tratamento de lixiviados o tratamento biológico, aeróbio e anaeróbio, os de separação com membranas, os oxidativos, o eletroquímico e os sistemas naturais, particularmente, os *wetlands*. Cabe ressaltar que, em alguns casos, utiliza-se uma combinação de processos, em virtude da alta recalcitrância à biodegradação do lixiviado. Além disso, um tratamento utilizado em conjunto com os outros processos é a recirculação do lixiviado no próprio aterro (Ferreira *et al.*, 2001).

As tecnologias mais comumente utilizadas para o tratamento do lixiviado são similares às de tratamento de esgotos. Isso se deve possivelmente ao fato de o tratamento de lixiviado ser considerado uma necessidade pelas sociedades há muito menos tempo do que o tratamento de esgotos, de forma que as técnicas desenvolvidas durante décadas visaram sobretudo o tratamento deste efluente.

Sabe-se, entretanto, que a concentração de alguns poluentes na composição do lixiviado tem valores significativamente mais altos do que nos esgotos domésticos (Lema *et al.* 1988; Tchobanoglous & Kreith, 2002; Jordão & Pessôa, 2005). Além disso, a variabilidade das características dos lixiviados, de diferentes aterros e de áreas com idades de aterramento diferentes, exige que os métodos de tratamento sejam adaptáveis às variações de qualidade e de volume desse efluente.

Dessa forma, é preciso que sejam desenvolvidos processos de tratamento adequados às características e variabilidade dos lixiviados de maneira a possibilitar elevadas eficiências de remoção de poluentes, o que, de forma geral, não acontece nos sistemas de tratamento de lixiviados comumente utilizados (Gomes, 2009).

Os processos de tratamento de lixiviado devem ainda apresentar baixo custo operacional e baixos requisitos tecnológicos visto que esse efluente continua a ser gerado nos locais de disposição final de resíduos sólidos por algumas décadas após o término do recebimento de resíduos nesses locais e, assim, deve continuar a ser tratado (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

Nesse cenário, o tratamento combinado de lixiviado com esgoto doméstico em estação de tratamento de esgotos (ETE) vem sendo adotado em vários países como forma de reduzir os custos de operação dos aterros e de evitar a poluição ambiental do descarte de lixiviado sem tratamento (Diamadopoulos *et al.*, 1997; Cossu, 1998; Ehrig, 1998; Ebert, 1999; Marttinen *et al.*, 2003).

São requisitos para o tratamento combinado: a viabilidade do transporte do lixiviado até a ETE, a capacidade da estação em assimilar esse efluente, a compatibilidade do processo de tratamento da ETE com as características desse material e a possibilidade do manejo do provável aumento de produção de lodo.

Essa pode ser uma alternativa viável para o tratamento de lixiviado nas cidades brasileiras onde exista tratamento de esgotos domésticos. Os aterros sanitários Bandeirantes, São João, Vila Albertina e Santo Amaro, em São Paulo (SP), da Extrema, em Porto Alegre (RS), Salvaterra, em Juiz de Fora (MG), CTR – BR040, em Belo Horizonte (MG) e o aterro controlado do Morro do Céu, em Niterói (RJ), são exemplos brasileiros de experiências de aterros que encaminham seus lixiviados para tratamento combinado com esgoto sanitário (Facchin *et al*, 2000; Ferreira *et al*, 2005; Paganini *et al*, 2003).

Paralelamente às vantagens do tratamento combinado, como o baixo custo de operação e a capacidade de amortecer variações de qualidade e quantidade de lixiviado, devem ser avaliadas as possibilidades de impactos da introdução do lixiviado na operação das ETE's e do efluente do tratamento combinado no meio ambiente.

No presente trabalho, considerou-se como hipótese a ser verificada que a adição de lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos a esgoto doméstico a ser tratado não resultaria em menores eficiências de remoção de poluentes do que as esperadas para tratamento somente de esgoto nem em efluente nocivo à biota presente nos ecossistemas que o receberiam.

A fim de verificar a hipótese considerada, foi realizado o monitoramento do tratamento do lixiviado do aterro do Morro do Céu de forma conjunta com esgoto doméstico na ETE Icaraí (Niterói – RJ). O monitoramento foi composto de caracterização físico-química utilizando parâmetros de controle de poluição estabelecidos em legislação pertinente; de ensaios ecotoxicológicos agudos realizados com organismos-teste de dois níveis tróficos (peixes e microcrustáceos) e da avaliação das vazões dos afluentes e efluente do tratamento combinado.

Na etapa seguinte do trabalho, foram realizados bioensaios com peixes para monitoramento da exposição sub-crônica desses organismos ao efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico em uma estação de tratamento em escala piloto construída na área da ETE Icaraí.

O formato escolhido para publicação do trabalho foi o de tese elaborada no formato de artigos científicos, preparados ao longo do curso de doutorado. De acordo com o regimento do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, a tese elaborada no formato de artigos científicos deve conter pelo menos um artigo publicado ou aceito para publicação em revistas classificadas no período de publicação como Qualis Internacional e dois artigos formatados para serem enviados para publicação em revistas científicas.

A tese está organizada em sete capítulos. O Capítulo 1 apresenta uma Introdução ao trabalho. No Capítulo 2, estão definidos o Objetivo Geral e os Objetivos Específicos que nortearam o desenvolvimento do trabalho. O Capítulo 3 traz o Referencial Teórico a respeito do tema. No Capítulo 4, são apresentados os Materiais e Métodos utilizados. Os artigos que compõem essa tese, nos quais são apresentados os resultados obtidos no trabalho, encontram-se no Capítulo 5. O Capítulo 6 traz as

Considerações Finais e nele são articulados os conteúdos dos artigos apresentados. Por fim, o Capítulo 7 traz as Referências Bibliográficas utilizadas.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o tratamento combinado de lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos e esgoto doméstico, em relação à eficiência de remoção de poluentes e a possíveis impactos na biota dos ecossistemas.

2.2. Específicos

- Avaliar o tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico utilizando parâmetros de controle de poluição (físico-químicos);
- Avaliar o tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico utilizando ensaios de ecotoxicidade aguda;
- Identificar possíveis efeitos tóxicos sub-letais decorrentes da exposição ao efluente do tratamento combinado em ensaios de ecotoxicidade sub-crônica, utilizando biomarcadores.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Tratamento Combinado de Lixiviado e Esgoto Doméstico

Conceitualmente, o tratamento combinado de lixiviado refere-se ao seu lançamento junto ao afluente de uma estação de tratamento de esgotos, devendo resultar em um efluente tratado que atenda às exigências estabelecidas em legislação pertinente.

Embora o tratamento combinado seja muito utilizado nos Estados Unidos e em países da Europa (Cossu, 1998; Diamadopoulos *et al.*, 1997; Ebert, 1999; Ehrig, 1998; Marttinen *et al.*, 2003), ainda se questiona sobre as interferências que o lixiviado, em função das suas características, pode promover nos processos de tratamento de esgotos, particularmente nos biológicos.

Critérios para a utilização do tratamento combinando, tais como proporção de lixiviado em relação ao esgoto, devem ser adequadamente definidos a fim de não resultar em efluente de qualidade tal que cause impactos negativos nos ecossistemas.

O referencial teórico a respeito do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico é apresentado na forma de artigo científico no Capítulo 5, Artigos da Coletânea. O artigo tem como título "Tratamento combinado de lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos e esgoto doméstico como alternativa para a solução de um grave problema ambiental e de saúde pública – revisão bibliográfica".

3.2. Indicadores Físico-Químicos como Instrumento de Avaliação do Tratamento Combinado de Lixiviado e Esgoto Doméstico

Os parâmetros indicadores de caracterização da água e de efluentes podem ter como objetivo identificar um composto individualmente, uma classe de compostos ou a determinação de parâmetros coletivos ou globais (Dezotti, 2008; Gomes, 2009).

Os efluentes são formados por misturas complexas de compostos químicos. A avaliação individual ou mesmo por classe de compostos, muitas vezes, não é possível de ser realizada de forma simples.

A grande variabilidade de composição entre os efluentes das mais diversas origens somada à entrada no mercado de inúmeras sustâncias químicas todos os anos, que passarão a fazer parte dos efluentes, torna muito difícil a caracterização completa da composição de um efluente.

Dessa forma, a determinação de parâmetros coletivos ou globais torna-se importante ferramenta de controle de poluição. De acordo com Dezotti (2008), a utilização desses parâmetros é baseada na definição de um equivalente de poluição que possa servir como grandeza básica para a medida do grau de poluição comum a todos os componentes da mistura.

A legislação vigente no país de controle de lançamento de efluentes e de qualidade de corpos hídricos usa, em grande parte, parâmetros globais como referências. Esses parâmetros podem ser observados nas Resoluções nº357 e nº430 do Conselho Nacional de Meio Ambiente - CONAMA (Brasil, 2005; Brasil, 2011), na norma técnica NT-202 da Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente do Estado do Rio de Janeiro – FEEMA, atual Instituto Estadual do Ambiente do Estado do Rio de Janeiro – INEA (FEEMA, 1986), na diretriz DZ-205 da FEEMA (FEEMA, 2007), na Deliberação Normativa nº 46 do COPAM (COPAM, 2001), na Resolução CONSEMA N º 128 (CONSEMA, 2006), entre outras legislações pertinentes.

Além da legislação de controle de poluição, o monitoramento de condições operacionais das estações de tratamento e a avaliação das eficiências de processos de tratamento também se valem de parâmetros globais como referências.

Para caracterização de lixiviados de aterros de resíduos sólidos e esgotos domésticos e avaliação dos seus tratamentos, os principais parâmetros físico-químicos globais utilizados são: pH, DBO, DQO, nitrogênio amoniacal, fósforo, cloretos, série sólidos, metais pesados (Cd, Ni, Zn, Cu e Pb, por exemplo) e outros metais (Al e Fe, por exemplo) (Von Sperling, 2005; Dezotti, 2008; Gomes, 2009).

O pH fornece indicação sobre acidez, neutralidade ou alcalinidade da amostra. Para lixiviados, o valor de pH é indicativo do estágio de decomposição dos resíduos dispostos no aterro. Os ácidos orgânicos voláteis, responsáveis pela redução do pH do lixiviado, são formados na fase ácida e consumidos na fase metanogênica, na qual há elevação do valor de pH (Tchobanoglous *et al.*, 1993; Gomes, 2009). Em esgotos domésticos brutos, o pH não sofre significativas variações, mantendo-se próximo à neutralidade (Von Sperling, 2005).

DBO e DQO são parâmetros indicadores de matéria orgânica. DBO, Demanda Bioquímica de Oxigênio, representa a concentração de matéria orgânica biodegradável presente em um efluente. Corresponde à quantidade de oxigênio consumida por microorganismos aeróbios para degradar os compostos orgânicos biodegradáveis presentes em uma amostra (Von Sperling, 2005; Dezotti, 2008).

Ensaios para determinação de DBO podem apresentar erros associados à ação dos microorganismos que, por se tratarem de organismos vivos, podem apresentar variações em seu desempenho em função da variabilidade da composição das amostras. Além disso, o consumo de oxigênio nos ensaios de DBO não acontece somente para oxidação da matéria orgânica, mas também para oxidação de substâncias inorgânicas, como sulfetos e íons de ferro (Dezotti, 2008).

DQO, Demanda Química de Oxigênio, corresponde ao consumo de oxigênio em função da oxidação química, por meio de um forte oxidante, da matéria orgânica. O resultado do ensaio expressa de forma indireta a concentração de matéria orgânica, biodegradável e inerte, presente na amostra. Assim como no ensaio de DBO, alguns constituintes inorgânicos podem ser oxidados e interferir no resultado do ensaio de DQO (Von Sperling, 2005; Dezotti, 2008).

A razão DBO/DQO fornece indicação a respeito da biodegradabilidade de um efluente (Von Sperling, 2005). Para lixiviados de aterros jovens, a razão DBO/DQO é elevada, variando entre 0,5 e 0,8, devido à presença de ácidos graxos voláteis compondo grande parte da DQO. Lixiviados de aterros velhos apresentam razão DBO/DQO reduzida, chegando a valores menores do que 0,05, uma vez que a maior parte dos compostos biodegradáveis já foi degradada (Gomes, 2009). Esgotos domésticos brutos apresentam razão DBO/DQO variando entre 0,4 e 0,6, indicando elevada biodegradabilidade (Von Sperling, 2005).

As formas predominantes de nitrogênio no ambiente são nitrogênio molecular, nitrogênio orgânico, nitrogênio amoniacal (amônia livre e íon amônio), íon nitrito e íon nitrato. Em lixiviados de aterros de resíduos sólidos, a forma predominante de nitrogênio é o nitrogênio amoniacal, relacionada à decomposição de proteínas presentes nos resíduos (Kjeldsen *et al.*, 2002; Giordano, 2003). Os valores de nitrogênio amoniacal para lixiviados variam de 50mg/L a mais de 2600mg/L e esses valores tendem a se manter durante o processo de degradação dos resíduos (Kjeldsen *et al.*, 2002; Gomes, 2009). Em condições metanogênicas nos aterros, não há oxigênio disponível para a nitrificação aeróbia do nitrogênio amoniacal. Em condições anóxicas, poderia ocorrer a conversão de amônia a N₂ por processo ANAMOX (*Anaerobic Ammonium Oxidation*), no qual o nitrito é o principal aceptor final de elétrons

(Sant'Anna Jr, 2010). Entretanto, as concentrações de nitritos em aterros são baixas, não favorecendo tal desnitrificação (Kjeldsen *et al.*, 2002; Giordano, 2003).

Nos esgotos domésticos brutos, as formas predominantes de nitrogênio são o nitrogênio orgânico (15mg/L a 25mg/L) e o nitrogênio amoniacal (20mg/L a 35mg/L). O nitrogênio orgânico corresponde a grupamentos amina e o nitrogênio amoniacal tem origem na uréia, ambos de origem fisiológica (Von Sperling, 2005).

O fósforo encontra-se nas águas e efluentes nas formas de fósforo inorgânico (ortofosfato e polifosfato) e fósforo orgânico. O fósforo inorgânico está associado a detergentes e outros produtos químicos e o fósforo orgânico, a restos de alimentos e excretas de organismos vivos. As concentrações de fósforo total em lixiviados e esgotos domésticos são baixas, variando entre 0,1mg/L e 50mg/L e entre 4mg/L e 15mg/L, respectivamente (Kjeldsen *et al.*, 2002; Von Sperling, 2005; Gomes, 2009).

Cloretos têm origem na dissolução de sais. Altas concentrações de sais nos aterros de resíduos podem causar inibição, por efeito osmótico, dos processos biológicos de degradação da matéria orgânica. Essas concentrações aumentam nos casos em que há recirculação do lixiviado dentro do próprio aterro (Giordano, 2003). As concentrações de cloretos nos lixiviados variam entre 200mg/L e 24000mg/L (Kjeldsen *et al.*, 2002; Gomes, 2009).

Nos esgotos domésticos, os cloretos são provenientes de compostos presentes na água de abastecimento humano e em dejetos de origem fisiológica. As concentrações de cloretos nos esgotos variam entre 20mg/L e 200mg/L (Gomes, 2009).

A avaliação da série sólidos permite conhecer as frações dos sólidos presentes nos efluentes classificados por tamanho, características químicas e sedimentabilidade. Em relação ao tamanho, os sólidos podem estar em suspensão (> 0,45μm) ou dissolvidos (< 0,45μm) no meio líquido. Segundo suas características químicas, os sólidos podem ser fixos (de origem inorgânica) ou voláteis (de origem orgânica). De acordo com a sedimentabilidade, são sólidos sedimentáveis aqueles capazes de sedimentar no período de uma hora e não sedimentáveis aqueles que não sedimentam nesse período (Von Sperling, 2005).

Em lixiviados de aterros de resíduos, a maior parcela dos sólidos está na forma dissolvida (350mg/L a 25000mg/L) do que na forma em suspensão (10mg/L a 2000mg/L) (Gomes, 2009). Esgotos domésticos também possuem maior concentração

de sólidos dissolvidos (500mg/L a 900mg/L) em relação aos sólidos em suspensão (200mg/L a 450mg/L) (Von Sperling, 2005).

A presença de sólidos em suspensão está associada à turbidez do efluente e a presença de sólidos dissolvidos influencia a cor verdadeira do mesmo (Von Sperling, 2005).

As principais fontes de metais para lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos são embalagens, material eletrônico, pilhas, lâmpadas fluorescentes, baterias recarregáveis, entre outros resíduos dispostos nos aterros, e, eventualmente, os solos utilizados como material de cobertura dos resíduos (Almeida & Vilhena, 2000; Gomes, 2009). Em aterros jovens, devido ao ambiente ácido, pode haver a solubilização de íons metálicos para o lixiviado. Em aterros velhos, o pH tende a aumentar e, devido à precipitação dos metais no aterro, sobretudo sob a forma de sulfetos, a concentração dos metais no lixiviado tende a diminuir (Kjeldsen *et al.*, 2002). Em geral, as concentrações de metais no lixiviado são baixas, na ordem de μg/L ou poucos mg/L.

Em esgotos domésticos, a presença de metais está associada à presença de corantes, tintas, vernizes, produtos farmacêuticos, cosméticos, material fotográfico, detergentes, entre outras fontes. As concentrações de metais em esgotos de origem doméstica são usualmente baixas (Tsutiya, 1999; Von Sperling, 2005).

3.3. Indicadores Biológicos como Instrumento de Avaliação do Tratamento Combinado de Lixiviado e Esgoto Doméstico

A caracterização de efluentes por meio de parâmetros globais de controle de poluição, embora atenda a grande parte dos requisitos da legislação de descarte de efluentes e permita o monitoramento da operação das estações de tratamento, pode não ser suficiente para permitir a interpretação dos efeitos desses efluentes no meio ambiente e na saúde humana.

Os efluentes podem apresentar grande complexidade e variabilidade de compostos orgânicos e inorgânicos, de origem natural ou sintética, que não são identificados por parâmetros físico-químicos globais. Em se tratando de lixiviados de aterros sanitários, esses compostos podem conter uma grande diversidade de substâncias originadas da constituição dos resíduos e também produtos da sua biodegradação no próprio aterro. Esgotos domésticos também tendem a ter sua composição cada vez mais complexa, com a adição de novas substâncias, presentes em fármacos e outros produtos

de uso pessoal que são desenvolvidos e tornam-se disponíveis à população continuamente, e terminam por ser excretadas nos esgotos.

Diante da complexidade e variabilidade dos efluentes, quando se busca avaliar os seus impactos no meio ambiente, faz-se necessário o uso de indicadores que permitam medir direta ou indiretamente a ação desses efluentes sobre organismos vivos. Indicadores biológicos, medidos a partir da observação de organismos ou de suas reações à presença de determinadas substâncias, podem trazer informações importantes para o monitoramento de impactos ambientais.

Entre os indicadores biológicos, ensaios de ecotoxicidade mostram-se ferramenta importante para o controle mais abrangente das fontes de poluição das águas. Por meio desses bioensaios (ensaios com organismos vivos), é possível se determinar o potencial tóxico de um agente químico ou de uma mistura complexa, sendo os efeitos desses poluentes mensurados pelas respostas de organismos vivos (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008).

Toxicidade refere-se à capacidade de uma substância ou mistura de substâncias de produzir efeitos adversos a determinado organismo vivo. A toxicidade varia de acordo com a concentração da substância ou mistura de substâncias no meio, com as vias de exposição e com o tempo de exposição (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008). As interações entre as substâncias presentes em uma mistura e/ou entre elas e outras substâncias presentes no meio também podem alterar a toxicidade. Tais interações podem ser de natureza antagônica, sinérgica ou aditiva (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008).

Devido a essas interações, um efluente que atende aos limites definidos em legislação para poluentes medidos em termos de parâmetros globais de poluição pode, ainda assim, apresentar elevada toxicidade. É necessário, então, o controle da toxicidade do efluente líquido, de tal forma que ele não cause efeitos deletérios à biota aquática e à saúde humana.

Os ensaios de ecotoxicidade utilizam-se de organismos-teste submetidos à exposição de poluentes com o objetivo de verificar o seu comportamento diante das ações nocivas das substâncias tóxicas. São indicados como organismos-teste, em normas padronizadas internacionalmente, aqueles definidos como representativos de diferentes níveis tróficos: bactérias (decompositores), algas (produtores primários), protozoários (consumidores primários), microcrustáceos (consumidores entre os

metazoários) e peixes (consumidores finais). A indicação dos organismos-teste deve atender ainda a critérios relativos à facilidade de manuseio, distribuição geográfica ampla, disponibilidade de aquisição, sensibilidade a poluentes e garantia de confiabilidade dos resultados (Knie & Lopes, 2004).

Ensaios de ecotoxicidade podem ser classificados, de acordo com o período de exposição, em agudos ou crônicos. Ensaios agudos são realizados utilizando períodos de exposição dos organismos aos poluentes variando de 0 a 96 horas, enquanto que, em ensaios sub-crônicos e crônicos, os organismos são expostos por um período mais longo, variando de dias a anos, de acordo com o ciclo de vida da espécie avaliada (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008).

Ensaios de ecotoxicidade aguda buscam identificar respostas rápidas e severas dos organismos à exposição dos poluentes. Organismos-teste são submetidos a diferentes diluições dos poluentes em análise. O controle dos ensaios é realizado pela observação dos organismos que não demonstram danos severos (morte, imobilidade, entre outros) durante o tempo de exposição. É possível, nesses ensaios, estabelecer relação entre concentração dos poluentes e efeitos observados. Os resultados dos ensaios de ecotoxicidade aguda usualmente são expressos em termos da concentração letal ou concentração de efeito a 50% da população exposta, CL50 e CE50, respectivamente (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008).

Ensaios de ecotoxicidade crônica prestam-se a detecção de danos que se manifestam após um período maior de exposição. Alguns exemplos desses danos podem ser alterações nos padrões esperados de crescimento e reprodução dos organismos, alterações metabólicas, mutações e morte (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008). Os ensaios de ecotoxicidade crônica são capazes de identificar efeitos sub-letais de poluentes em organismos, ou seja, efeitos que ocorrem antes da morte do organismo. A identificação de efeitos sub-letais é particularmente importante para avaliação da ecotoxicidade de efluentes que são lançados em corpos hídricos continuamente, onde os organismos ficarão expostos aos poluentes por longos períodos.

Para identificação de efeitos sub-letais, são avaliadas respostas biológicas dos organismos aos poluentes, também conhecidas como marcadores biológicos ou biomarcadores. Biomarcadores são definidos como alterações bioquímicas, celulares, moleculares ou mudanças fisiológicas nas células, fluidos corpóreos, tecidos ou órgãos de um organismo que são indicativas da exposição ou efeito de um poluente (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

O uso de biomarcadores em níveis celular e molecular permite a obtenção de informações a respeito dos danos iniciais provocados aos organismos devido à exposição a poluentes. Esses danos ocorrem antes que alterações em níveis individual ou de populações possam ser percebidos. Por esse motivo, biomarcadores em níveis celular e molecular vêm mostrando-se como ferramentas bastante sensíveis de avaliação de poluição nos casos de exposição crônica de organismos (Arias *et al.*, 2005; Viarengo *et al.* 2007; Arias *et al.*, 2008 A; Arias *et al.*, 2008 B; Freire *et al.*, 2008).

Por tratar-se de uma resposta biológica dada pelo organismo à exposição ou efeito de determinado poluente ou classe de compostos, o uso de um biomarcador isoladamente pode não revelar os danos reais causados por uma mistura complexa de poluentes. Dessa forma, recomenda-se o uso em conjunto de diversos biomarcadores, sensíveis a poluentes diferentes, no sentido de obter uma avaliação mais ampla dos impactos na saúde dos organismos expostos (Freire *et al.*, 2008).

Alguns biomarcadores relevantes na avaliação de impactos em ecossistemas hídricos estão descritos no item 3.3.1.

3.3.1. Biomarcadores indicativos de efeitos sub-letais

Fator de Condição

O fator de condição se propõe a ser um indicador da condição geral da saúde dos indivíduos expostos em um bioensaio. É calculado por uma relação entre peso e comprimento do organismo-teste, conforme indicado na Equação 1 (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

$$FC = peso \times 100 / comprimento^{3}$$
 (Eq.1)

Esse fator considera se a disponibilidade de comida é limitada e/ou se o consumo de alimentos pelos organismos vivos está prejudicado devido a fatores estressores. Embora esse parâmetro possa ser afetado por outros fatores que não a poluição (doenças, períodos do ano etc), por ser de simples obtenção, serve como um biomarcador inicial para indicação de possíveis impactos da poluição nos organismos (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

Metalotioneínas

Metalotioneínas são proteínas encontradas nos tecidos de animais e que possuem alta afinidade por íons metálicos do grupo IB e IIB da Tabela Periódica. Atuam na homeostase e na destoxicação de metais essenciais e não essenciais. As metalotioneínas se ligam ao excesso de metais essenciais e a metais poluentes, protegendo o organismo da toxicidade desses compostos inorgânicos (Arias *et al.*, 2005; Inácio, 2006; Freire *et al.*, 2008).

A produção de metalotioneínas é induzida pelo aumento da entrada de metais nas células, o que faz com que elas sejam biomarcadores específicos de exposição à contaminação por metais (Freire *et al.*, 2008). As metalotioneínas podem ser induzidas para se ligarem a metais como Zn, Cu, Cd, Hg, dependendo da natureza e/ou afinidade de cada metal pela proteína e da espécie avaliada (Inácio, 2006).

Em organismos aquáticos, como peixes, as guelras, o rim e a glândula digestiva estão diretamente envolvidos na entrada, estocagem e excreção de metais e por isso possuem alta capacidade de sintetizar metalotioneínas (Inácio, 2006; Freire *et al.*, 2008).

Acetilcolinesterase

Acetilcolinesterase é a enzima responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina, que atua na transmissão de impulsos nervosos em diversos órgãos e músculos. A produção dessa enzima é inibida pela presença de agrotóxicos organofosforados e carbamatos (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

A utilização de agrotóxicos, embora esteja muito associada a áreas agrícolas, também acontece em áreas urbanas. Compostos organofosforados e carbamatos estão na base da formulação de inseticidas e praguicidas, utilizados no controle de vetores e pragas urbanas, como Malation, Clorpirifós e Triclorfon (organofosforados) e Carbaril e Dioxacarb (carbamatos) (FEEMA, 1997). Dessa forma, a poluição dos corpos hídricos por agrotóxicos acontece em áreas agrícolas e urbanas, devido à lixiviação do solo e aos efluentes descartados por essas atividades.

A inibição da enzima acetilcolinesterase, analisada em tecidos de músculo de peixes, vem sendo utilizada em diversos estudos como biomarcador para caracterizar os efeitos de agrotóxicos organofosforados e carbamatos (Arias *et al.*, 2005; Viarengo *et al.*, 2007; Arias *et al.*, 2008 A; Arias *et al.*, 2008 B).

Micronúcleos

Micronúcleos são formados por fragmentos de cromossomos acêntricos ou por cromossomos inteiros que não completaram corretamente a divisão celular. A formação desses fragmentos de cromatina nas células, separados do núcleo principal, é irreversível e poder ser ocasionada como resposta à ação de compostos tóxicos (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

Algumas substâncias químicas que compõem efluentes lançados em corpos hídricos possuem efeitos genotóxicos, causando danos ao material genético das células. Esses danos podem dar origem à mutagênese (danos causados a moléculas de DNA não reparados no momento da replicação celular e que podem ser passados para as gerações seguintes) e até mesmo à carcinogênese (mutações que permitem o desenvolvimento de neoplasias) (Ohe *et al.* 2004).

Ensaios de micronúcleo avaliam a frequência de formação dos fragmentos de cromatina nas células, valendo-se de análises citogenéticas. Em ensaios utilizando peixes como organismos-teste, a contagem de micronúcleos pode ser realizada em eritrócitos periféricos, células das guelras, rins, fígado ou barbatana (Freire *et al.*, 2008).

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos designam uma classe de compostos, com estrutura química semelhante, caracterizada por possuir dois ou mais anéis aromáticos condensados. A origem dos HPA's no ambiente pode ser natural, advindos de incêndios de florestas e erupções vulcânicas, ou antropogênica, por meio de emissões por veículos, queima de carvão, incineração de resíduos, processos industriais, como produção de alumínio e celulose, e derramamentos de petróleo, entre outras (ATSDR, 1995; Freire, 2008).

A Agência Americana de Proteção ao Meio Ambiente – EPA (sigla em inglês) e a Agência Americana para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças - ATSDR (sigla em inglês) consideram HPA's como poluentes prioritários para o monitoramento ambiental devido ao seu potencial de causar danos (incluindo mutagênese e carcinogênese, para alguns compostos) à saúde humana e à biota nos ecossistemas (ATSDR, 1995; EPA, 2000).

HPA's têm reduzida solubilidade em água e tendem a se depositar no sedimento nos corpos hídricos. Possuem elevada persistência ambiental. São absorvidos

pela biota, sobretudo por meio da ingestão de alimentos e sedimentos contendo esses compostos (ATSDR, 1995; Freire, 2008).

Alguns organismos, como peixes, são capazes de metabolizar HPA's e transformá-los em compostos mais hidrossolúveis e, assim, com maior capacidade de eliminação. Os HPA's são metabolizados principalmente pelo fígado e ficam armazenados na vesícula biliar até serem excretados (ATSDR, 1995; Freire, 2008).

A determinação de metabólitos de HPA's na bile de peixes configura-se em importante biomarcador para o monitoramento da exposição a esses compostos (Freire, 2008).

3.4. Aterro Controlado do Morro do Céu e Estação de Tratamento de Esgoto de Icaraí — Niterói (RJ)

O aterro do Morro do Céu está localizado no bairro do Caramujo, a aproximadamente 10km do centro de Niterói, e ocupa uma área de cerca de 95.000m². Sua operação iniciou-se em 1983, sob a forma de local provisório para lançamento de resíduos, após a desativação de um antigo vazadouro municipal de resíduos sólidos. Recebe atualmente em torno de 750 toneladas de resíduos sólidos por dia (Sisinno & Moreira, 1996; Ferreira *et al*, 2005). O aterro é operado pela Companhia Municipal de Limpeza Urbana de Niterói – CLIN, responsável pela gestão dos resíduos sólidos no município, sob a forma de aterro controlado. A Figura 1 - Anexo 1 apresenta uma vista aérea do aterro do Morro do Céu.

Durante muitos anos, grande parte do lixiviado gerado no aterro era encaminhada diretamente para o córrego Mata Paca, contribuinte do Rio Sapê, o qual faz parte da bacia hidrográfica da Baía de Guanabara (Sisinno & Moreira, 1996). Até 2004, apenas 15m³ de lixiviado eram transportados diariamente para tratamento na estação de tratamento de lixiviado do Aterro Metropolitano de Gramacho, no município de Duque de Caxias (Ferreira *et al*, 2005).

Como resultado de intervenções propostas para reduzir os impactos ambientais do aterro do Morro do Céu (Ferreira *et al*, 2005), a partir do final do ano de 2004, todo o lixiviado gerado no aterro, cerca de 150m³/dia, passou a ser encaminhado para tratamento na Estação de Tratamento de Esgotos de Icaraí, no bairro de Icaraí. O lixiviado foi transportado para a ETE por caminhões pipa até a conclusão das obras de

interligação do ramal de transporte de lixiviado, que possui cerca de 5km de extensão, à rede de coleta de esgotos da cidade em novembro de 2005.

A ETE Icaraí iniciou sua operação na configuração atual em agosto de 2003. Recebe, de acordo com informações recebidas da empresa que opera a estação, Águas de Niterói, entre 750 e 850L/s de esgoto, ou seja, entre 64800 e 73440m³/dia.

A ETE possui tratamento em níveis preliminar e primário quimicamente assistido, composto por gradeamento, desarenação, tanque de mistura de coagulante, decantação e secagem de lodo. O efluente da estação é encaminhado a um emissário submarino. Uma vista aérea da ETE Icaraí é apresentada na Figura 2 - Anexo 1.

As etapas de tratamento preliminar presentes na ETE Icaraí são o gradeamento e a desarenação. O gradeamento é uma etapa de tratamento que se destina principalmente à remoção de sólidos grosseiros. O material de dimensões maiores do que o espaçamento entre as barras da grade é retido (Jordão & Pessoa, 2005; Von Sperling, 2005).

A desarenação visa à remoção de areia. O mecanismo de remoção de areia é a sedimentação. Grãos de areia, devido às suas dimensões e densidade maior do que a da água, encaminham-se para o fundo do tanque de desarenação por ação da gravidade. A matéria orgânica particulada, de sedimentação mais lenta, permanece em suspensão, seguindo para as unidades de tratamento a jusante (Jordão & Pessoa, 2005; Von Sperling, 2005).

O tratamento de esgotos em nível primário destina-se à remoção de sólidos em suspensão sedimentáveis e sólidos flutuantes. O principal processo de remoção de sólidos suspensos é a sedimentação. A separação sólido-líquido se baseia na diferença de densidade entre ambas as fases, sendo que os sólidos, mais densos do que a água, sedimentam-se no fundo de um tanque, comumente chamado de decantador (Jordão & Pessoa, 2005; Von Sperling, 2005).

O tratamento primário quimicamente assistido é uma variação do tratamento primário no qual são adicionados agentes químicos coagulantes antes da etapa de decantação dos sólidos. Essa adição de coagulantes acontece na ETE Icaraí em um tanque de mistura de coagulante. O agente coagulante utilizado, cloreto férrico, age anulando forças de repulsão entre as partículas coloidais. As partículas "neutralizadas" agregam-se uma às outras formando flocos. Esses flocos têm maior capacidade de

sedimentação do que as partículas coloidais isoladamente, favorecendo a maior remoção de sólidos do efluente na etapa de decantação (Jordão & Pessoa, 2005).

A secagem de lodo é realizada no sentido de reduzir a umidade do lodo e, em consequência seu volume, para que ele possa seguir para etapa posterior de tratamento de lodo ou ser destinado a um aterro de resíduos sólidos sem prejudicar a operação desses (Jordão & Pessoa, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Monitoramento de Vazões

Foram avaliados dados diários de monitoramento de vazão a fim de se poder conhecer a proporção de lixiviado em relação ao esgoto doméstico tratados na ETE Icaraí. Todos os dados de vazão foram fornecidos pela Águas de Niterói, empresa que opera a ETE Icaraí.

Foram avaliados os dados diários de vazão de esgoto doméstico e de lixiviado no período de janeiro de 2007 a setembro de 2008.

4.2. Monitoramento de Indicadores Físico-Químicos de Controle de Poluição

Amostras da mistura de esgoto e lixiviado afluente e do efluente da ETE Icaraí, do esgoto puro contribuinte à estação e do lixiviado do aterro do Morro do Céu foram coletadas para realização de ensaios de caracterização, utilizando indicadores físico-químicos, e ensaios de ecotoxicidade aguda (Figura 3 - Anexo 1).

As amostras do afluente à estação, adotado no trabalho como entrada da ETE, foram coletadas após as grades de barras e antes do gradeamento fino na ETE Icaraí. As amostras do efluente, adotado no trabalho como saída da ETE, foram coletados em um caixa de passagem que reúne as tubulações de saída dos quatro decantadores existentes na ETE Icaraí.

As amostras do esgoto puro foram coletadas em um poço de visita após a elevatória de São Francisco, localizado na esquina da Rua Lemos Cunha com a Avenida Almirante Ary Parreiras.

As amostras do lixiviado foram coletadas no aterro do Morro do Céu, em um vertedouro localizado antes da entrada do lixiviado na linha de interligação do aterro à rede coletora de esgotos.

Todas as amostras foram do tipo simples, coletadas em um único momento.

As caracterizações das amostras líquidas da entrada e da saída da ETE Icaraí, do esgoto puro e do lixiviado do aterro do Morro do Céu foram realizadas no sentido de verificar se a introdução de lixiviado comprometeu a eficiência de tratamento

na ETE Icaraí e se o efluente do tratamento combinado atende a legislação vigente de descarte de efluentes.

As amostras foram coletadas no período de abril de 2007 a setembro de 2008. Nesse período, foram coletadas e analisadas 29 amostras em cada um dos pontos de entrada e saída da ETE Icaraí, 25 amostras de esgoto puro e 25 amostras de lixiviado.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da UERJ - LES/UERJ, de acordo com métodos descritos no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2005). Os parâmetros analisados foram: pH, turbidez, cor verdadeira, DBO₅, DQO, cloreto, série sólidos, nitrogênio amoniacal e fósforo.

O pH foi determinado de acordo com metodologia descrita em APHA (2005), método 4500H+ B - *Electrometric Method*. Foi utilizado pHmetro da marca Analyser, modelo pH300M e eletrodo combinado (modelo 2A13). O pHmetro associado ao eletrodo faz a conversão do valor do potencial do eletrodo em unidades de pH.

A turbidez foi medida a partir de um turbidímetro (Solar, modelo SL2K) segundo metodologia descrita em APHA (2005), método 2130 B - *Nephelometric Method*. O método consiste na comparação entre a intensidade de luz dispersada pela amostra com a intensidade de luz dispersada por uma suspensão padrão. Os resultados são expressos em Unidade Nefelométrica de Turbidez (UNT).

A análise de cor foi feita segundo metodologia descrita em APHA (2005) - método 2120 C. Para verificação da cor verdadeira as amostras foram previamente filtradas a vácuo em membrana de celulose de 0,45μm. As amostras foram lidas no espectrofotômetro (*Hach*, modelo DR2800) no comprimento de 465nm.

A análise de DBO_5 foi realizada segundo a metodologia descrita em APHA (2005) – método 5210 B.

A DQO foi analisada segundo a metodologia de refluxo em meio ácido, descrita em APHA (2005) – método 5220 D. *Closed Reflux, colorimetric method*. Utilizou-se o espectofotômetro da *Hach*, modelo DR2800 e digestor *Hach*, modelo DRB200.

Para análise de Cloreto, utilizou-se o método argentométrico (método de *Mhor*), conforme descrito em APHA (2005) - Método 4500 Cl- B.

Foram determinados os sólidos totais, dissolvidos totais, suspensos totais e suspensos voláteis, de acordo com as metodologias descritas em APHA (2005) métodos 2540 B, 2540 C e 2540 E. A quantificação foi determinada pela diferença gravimétrica. Para obtenção de sólidos suspensos e dissolvidos a amostra foi filtrada em filtro de 0,45µm e submetida à temperatura de 180°C. Para obtenção dos sólidos suspensos voláteis foi necessário submeter o material retido no filtro a uma temperatura de 550 ±50°C, quando a matéria volátil é quase completamente eliminada. Foi utilizado forno mufla da *Quimis*, modelo Q318M24 e estufa *Fabbe-primar*, modelo 219.

A metodologia seguida para análise de nitrogênio amoniacal foi a do eletrodo seletivo de amônia, descrito em APHA (2005) - método 4500-NH₃ D *Ammonia-Selective Electrode Method*, onde o pH é elevado para acima de 11 com o fim de converter toda a amônia dissolvida para gás amônia. Este, permeia a membrana do eletrodo mudando o pH da solução interna. Utilizando um potenciômetro, comparam-se as medidas de referência e lidas na amostra. Foram preparados, previamente, padrões de 1000, 100, 10 e 1 mg de N-NH₃/L para construção da curva padrão de calibração. Utilizou-se o Potenciômetro da marca Orion, modelo 290A.

A análise de fósforo foi realizada a partir da digestão da amostra em meio ácido, que resulta na liberação de fósforo da matéria orgânica e da matéria em suspensão. A quantificação é colorimétrica em comprimento de onda de 880nm. A metodologia é descrita em APHA (2005) – método 4500-P E. *Ascorbic Acid Method*. Foi utilizado espectofotômetro da *Hach*, modelo DR2800.

4.3. Monitoramento de Indicadores Biológicos — Ensaios de Ecotoxicidade Aguda

Os ensaios de ecotoxicidade aguda foram realizados com organismos-teste Danio rerio (peixe) e Daphnia similis (microcrustáceo).

Peixes da espécie *Danio rerio* são organismos que vivem em água doce, têm comprimento em torno de 35mm e peso em torno de 0,3g. Peixes são organismos consumidores e fazem parte no nível superior em ecossistemas aquáticos (Knie & Lopes, 2004; Dezotti, 2008). São conhecidos popularmente como "zebrafish" (peixezebra) ou paulistinha. A indicação do uso desses organismos para ensaios ecotoxicológicos deve-se a razões como: possuem elevada capacidade de adaptação a variações de condições ambientais naturais e artificiais; estão disponíveis

comercialmente em muitos países; suportam grandes variações de pH e dureza da água; são sensíveis a ampla faixa de contaminantes aquáticos (Knie & Lopes, 2004).

Daphnias têm papel importante em ecossistemas de água doce pois desempenham função de filtradores do fitoplâncton, convertendo-o a proteína animal. Além disso, servem como alimento para predadores invertebrados e vertebrados (Knie & Lopes, 2004; Castilhos Jr., 2006; Dezotti, 2008). São conhecidos popularmente como pulgas d'água e possuem tamanho em torno de 5mm. A indicação do uso desses organismos para ensaios ecotoxicológicos deve-se a razões como: estarem amplamente distribuídos em corpos hídricos de água doce; serem importantes fonte de alimento para pequenos peixes; serem sensíveis a ampla faixa de contaminantes aquáticos; possuírem pequeno tamanho, o que requer volumes reduzidos de água de diluição e de amostra; possuírem reprodução assexuada, que gera organismos clones idênticos (Knie & Lopes, 2004; Castilhos Jr., 2006; Dezotti, 2008).

Além dos fatores citados para indicação de *Danio rerio* e *Daphnia similis* como organismos-teste, vale ressaltar a existência de normas para ensaios ecotoxicológicos com esses organismos, o que permite padronização dos procedimentos de ensaios.

Nessa etapa do trabalho, buscou-se conhecer efeitos de toxicidade aguda aos organismos-teste. A toxicidade aguda é causada por agentes químicos a organismos vivos e se manifesta por meio de efeito letal ou outro efeito em um curto espaço de tempo. O tempo de exposição para que os efeitos tóxicos agudos aconteçam varia em torno de 0 a 96h (Knie & Lopes, 2004). No presente trabalho, o tempo de exposição determinado para todos os ensaios foi de 48h, conforme recomendado pelas normas técnicas pertinentes para os organismos estudados (CETESB, 1990; ABNT, 2003).

Os peixes foram adquiridos em piscicultura e permaneceram em aclimatação por 10 dias em aquário abastecido com água filtrada e desclorada antes de serem utilizados nos ensaios (Figura 4 - Anexo 1).

Os microcrustáceos foram cultivados em laboratório em água reconstituída (dureza entre 40 and 48mg/L CaCO₃) e alimentados com algas *Ankistrodesmus falcatus*. A Figura 5 - Anexo 1 mostra uma imagem ilustrativa de *Daphnia similis*.

Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados em amostras coletadas na entrada e na saída da ETE Icaraí, do esgoto puro e do lixiviado do aterro do Morro do Céu. Os locais de coleta de amostras para os ensaios ecotoxicológicos foram os mesmos

indicados para as coletas de amostras para os ensaios de caracterização (físicoquímicos). Todas as amostras foram do tipo simples, coletadas em um único momento.

As amostras foram coletadas no período de novembro de 2006 a fevereiro de 2008, totalizando onze grupos de ensaios. Cada grupo de ensaios abrangeu aqueles realizados com peixes e microcrustáceos para todas as amostras coletadas em um determinado dia.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental da Fundação Oswaldo Cruz seguindo as normas CETESB (1990) e ABNT (2003), com adaptações.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda consistem na exposição de indivíduos jovens a várias concentrações de uma amostra, sem renovação das soluções, por um período contínuo de 48 horas, sob condições controladas de temperatura, oxigênio dissolvido e fotoexposição. Nos ensaios, determina-se o valor do CENO (Concentração de Efeito Não Observado), correspondente a maior concentração do efluente que não causa efeito deletério estatisticamente significativo na sobrevivência e/ou reprodução dos organismos, em um determinado tempo de exposição, nas condições de ensaio (Knie & Lopes, 2004; Brasil, 2011).

A partir do CENO, pode ser determinado o Fator de Toxicidade da amostra, expresso em números de Unidades de Toxicidade (UT). A UT corresponde ao número adimensional que expressa a menor diluição da amostra, em que não ocorreu morte ou imobilidade em mais de 10% dos organismos nas condições de ensaio (ABNT, 2003; Knie & Lopes, 2004; Brasil, 2011).

O valor da Unidade de Toxicidade (UT) pode ser calculado de acordo com a Equação 2 (FEEMA, 1990).

$$UT = 100 / CENO$$
 (Eq. 2)

Para os ensaios com *Danio rerio*, o efeito tóxico esperado é a mortalidade dos indivíduos e para *Daphnia similis*, o efeito tóxico esperado é a perda de mobilidade.

Foram determinadas também as concentrações letais a 50% dos organismos nos ensaios (CL50), que representam a concentração necessária do efluente ensaiado para causar a morte em 50% dos organismos-teste. Esses valores foram determinados

por meio de cálculo estatístico utilizando o método Trimmed Spearman-Karber (Hamilton *et al.*,1977).

Cabe observar que, embora o efeito tóxico esperado nos ensaios com *Daphnia similis* não seja a letalidade, optou-se por expressar os resultados desses ensaios em termos de CL50, concentração letal a 50% dos organismos nos ensaios, e não CE50, concentração de efeito a 50% dos organismos nos ensaios. Essa opção foi justificada pelo fato de se acreditar que, devido à elevada toxicidade das amostras trabalhadas, os microcrustáceos perderiam não só a mobilidade como também seriam levados à mortalidade.

4.4. Monitoramento de Indicadores Biológicos – Ensaios de Ecotoxicidade Sub-Crônica

Foram realizados ensaios de ecotoxicidade sub-crônica para identificação de possíveis interações entre compostos presentes no efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico em organismos-teste. Esses ensaios buscaram identificar efeitos tóxicos sub-letais, ou seja, alterações de funções vitais ou de composição química nos organismos que se manifestam antes que danos letais possam ocorrer.

A fim de possibilitar a avaliação do tratamento combinado por meio de biomarcadores indicativos de efeitos tóxicos sub-letais, peixes conhecidos como Tilápia foram expostos ao efluente tratado de uma estação de tratamento combinado de lixiviado e esgoto em escala piloto.

A escolha de Tilápias como organismos-teste para o estudo deveu-se a um conjunto de fatores, quais sejam: são organismos existentes em grande parte dos corpos hídricos de água doce no território nacional, embora sejam exóticos, originários da África; apresentam grande importância comercial pois têm lugar expressivo entre os peixes de água doce cultivados para alimentação humana; são organismos com boa capacidade de adaptação a variações de qualidade de água, quando comparados com outros peixes cultivados – apresentam tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido e a altas concentrações de amônia; são capazes de se desenvolver em ampla faixa de acidez e alcalinidade na água (Santos *et al.*, 2009; Soares, 2003).

A estação de tratamento piloto foi implantada na área da ETE Icaraí. A estação piloto operou por meio de processo de lodos ativados e foi projetada para tratar lixiviado de forma conjunta com esgoto doméstico em regime de aeração prolongada.

O processo de lodos ativados é uma forma de tratamento de efluentes de natureza biológica. De acordo com Jordão e Pessôa (2005) e Von Sperling (2005), a matéria orgânica presente no efluente bruto é degradada por uma comunidade formada por diversos microorganismos, à qual se denomina lodo ativado. Conforme descrevem os autores, o lodo ativado deve ser mantido, por um dado intervalo de tempo, em condições de aeração, pH, temperatura e agitação adequadas para que possa crescer e interagir com a matéria orgânica presente no meio. Essa interação acontece em unidades conhecidas como tanques de aeração ou reatores aeróbios. A seguir, o lodo é separado do efluente por sedimentação em unidades conhecidas como decantadores. Parte do lodo separado retorna ao reator aeróbio por meio de um sistema de reciclo de lodo, assegurando elevada concentração microbiana no interior do reator. O lodo em excesso é retirado e encaminhado para tratamento específico.

Aeração prolongada é uma variação do processo de lodos ativados convencional onde o lodo ativo permanece por mais tempo no sistema (Jordão e Pessôa, 2005; Von Sperling, 2005). O reator aeróbio possui maior volume, para abrigar maior quantidade de biomassa, e o tempo de detenção hidráulica (TDH) do líquido aumenta em relação ao processo convencional. Sistemas em regime de aeração prolongada usualmente apresentam maiores eficiências de remoção de matéria orgânica (Jordão e Pessôa, 2005; Von Sperling, 2005).

4.4.1. Estação de Tratamento Combinado em Escala Piloto

A estação de tratamento por lodos ativados em escala piloto construída era composta de reator aeróbio, decantador e sistema de reciclo de lodo (Figura 6 - Anexo 1).

O reator aeróbio foi operado com volume de 1150L. O reator aeróbio possuía um aerador de superfície, com potência de 1/2cv (fabricante EBERLE, modelo B71a4), a fim de manter os sólidos em suspensão e garantir o fornecimento de oxigênio para a biomassa. O decantador, em formato cônico com diâmetro superior de 40cm, possuía volume de 100L.

O retorno do lodo para o tanque de aeração era feito por um sistema de air lift, no qual o lodo sedimentado era arrastado para o tanque de aeração quando o compressor de ar (fabricante Schulz, modelo MS2,3 - Jet Master) era acionado. O retorno do lodo foi programado para acontecer em intervalos de 30 minutos, durante um tempo de dois minutos. Não foi realizada a retirada de lodo em excesso devido a

quantidade reduzida de massa biológica no tanque de aeração durante todo o período de operação da estação piloto.

A alimentação da estação piloto foi projetada para utilizar uma bomba dosadora de vazão, a fim de garantir o tempo de detenção hidráulica no tanque de aeração. Uma bomba submersa de grande vazão captava esgoto com lixiviado dentro da caixa de areia da ETE Icaraí. Essa bomba era ligada uma vez ao dia e alimentava uma caixa d'água de 2000L, localizada ao lado da estação piloto. A bomba dosadora de vazão captava o esgoto com lixiviado dentro da referida caixa d'água e alimentava o reator aeróbio da estação piloto.

A estação de tratamento piloto operou com vazão média de 60L h⁻¹ e tempo de detenção hidráulica variando entre 17h e 19h com recirculação do lodo biológico. O reator aeróbio foi inicialmente inoculado com biomassa aeróbia proveniente do processo biológico (sistema de biodiscos) da ETE Toque Toque, também localizada em Niterói (RJ). No tanque de aeração, a concentração de oxigênio dissolvido foi mantida acima de 2,0mg L⁻¹. O pH do afluente à estação de tratamento piloto foi mantido na faixa de 6,5 a 7,0.

A estação piloto operou em três fases, que diferem na proporção da mistura de lixiviado na alimentação. Na Fase I, a alimentação foi realizada com proporção em volume de lixiviado na faixa de 2% a 2,5%. Ao efluente da caixa de areia da ETE Icaraí, contendo entre 0,5% e 1% de lixiviado, era feita adição complementar de 1% de lixiviado. Na Fase II, o sistema foi alimentado somente com o efluente da caixa de areia da ETE Icaraí, contendo proporções entre 0,5% e 1% de lixiviado. Na Fase III, foi repetida a mistura de alimentação da Fase I, com proporções de lixiviado variando de 2% a 2,5%.

4.4.2. Ensaios de Ecotoxicidade Sub-Crônica - Configuração

Foi construído um aquário destinado a receber o efluente tratado da estação de tratamento combinado em escala piloto, em fluxo contínuo, e abrigar os peixes a serem avaliados.

O aquário foi implantado em uma caixa d'água de 1000L, fabricada em PEAD, apoiada sobre piso de blocos de concreto intertravados. A caixa d'água possuía dimensões aproximadas de 2m x 1m x 0,5m. A alimentação do aquário foi feita por meio de uma tubulação de PVC com diâmetro de 2" conectada à saída do decantador da estação de tratamento piloto e apoiada sobre a borda de uma das laterais de menor

dimensão da caixa d'água. A saída do aquário foi feita na parte superior da lateral de menor dimensão oposta àquela de alimentação. O efluente do aquário era conduzido para uma caixa de passagem da ETE Icaraí por meio de mangueira transparente com diâmetro de 1 ¼". A Figura 7 - Anexo 1 mostra uma imagem do aquário construído.

A fim de evitar que os peixes se alimentassem de resíduos depositados no fundo da caixa d'água, uma rede de pesca de náilon foi ancorada nas bordas superiores daquela, formando uma catenária cujo vértice distava aproximadamente 5cm do fundo da caixa.

Os peixes inseridos no aquário não receberam qualquer tipo de ração ou outro alimento além do efluente tratado da estação de tratamento piloto.

Quatro compressores de ar de aquário, com duas saídas cada, realizaram a aeração na caixa d'água. A cada saída de ar, foi acoplada uma mangueira de aquário, feita em PVC transparente e com 0,5cm de diâmetro, com uma pedra porosa na extremidade.

Definiu-se para o estudo a utilização de peixes machos conhecidos como Tilápia com peso em torno de 500g, adquiridos vivos em criadouro. A aquisição de peixes em criadouro foi definida no sentido de tentar garantir a sua não contaminação inicial. Como fornecedor dos peixes, foi escolhida a Cooperativa dos Aquicultores do Sul Fluminense PeixeSul LTDA, localizada na cidade de Piraí (RJ). Piraí encontra-se distante aproximadamente de 100km de Niterói, onde está localizada a ETE Icaraí. A escolha do fornecedor deu-se pela relevância da região na produção de Tilápias no estado do Rio de Janeiro, pelas boas condições técnicas e sanitárias da cooperativa e pela sua capacidade de fornecimento contínuo de peixes vivos.

A cooperativa fornecedora de peixes recebe Tilápias de diferentes criadouros. As espécies dos peixes recebidas na cooperativa são *Oreochromis niloticus* (Tilápia do Nilo), *Oreochromis niloticus niloticus* (Tilápia Saint Peters) e *Tilapia rendalli* (Tilápia Rendali). Alguns criadouros cultivam ainda a Tilápia Tailandesa, que é uma linhagem considerada mais pura da Tilápia do Nilo.

O transporte dos peixes da cooperativa até o local onde estava localizado o aquário e daí até o laboratório foi feito com a utilização de latas de lixo plásticas de 85L, sacos plásticos de 60cm x 90cm e compressores de ar de aquário, alimentados com pilhas (Figuras 8 e 9 – Anexo1). Os peixes eram acondicionados nos sacos plásticos contendo água, os quais eram fechados, permitindo apenas a passagem das mangueiras

vindas dos compressores de ar portáteis. Foram usados dois compressores de ar com uma saída cada para cada conjunto de peixes transportado em um saco. Os peixes transportados em cada saco nunca ultrapassaram o número de seis. Os sacos com peixes eram inseridos dentro das latas de lixo, para proteção destes.

Foram realizados cinco experimentos de exposição dos peixes no aquário ao efluente tratado da estação piloto. O primeiro experimento teve 14 peixes expostos e duração de 8 dias. O segundo experimento teve 6 peixes expostos e duração de 7 dias. O terceiro, quarto e quinto experimentos tiveram 8 peixes expostos e duração de 14 dias. Todos os experimentos foram realizados entre outubro e dezembro de 2008.

As exposições foram consideradas sub-crônicas visto que os seus tempos de duração foram significativamente menores do que o tempo médio de vida dos peixes avaliados, em torno de 6 meses.

Nos experimentos primeiro ao quarto, a proporção da mistura de lixiviado na alimentação da estação piloto manteve-se entre 0,5% e 1%. No quinto experimento, a alimentação foi realizada com proporção em volume de lixiviado variando de 2% a 2,5%.

Entre o encerramento de um experimento de exposição dos peixes no aquário e o início do seguinte, a caixa d'água e a rede eram lavadas com água corrente e as mangueiras dos compressores de ar e as pedras porosas eram substituídas por novas.

Os peixes controles, não submetidos à exposição e utilizados para comparação, totalizaram 25 unidades. Esses peixes eram levados ao laboratório para coleta de amostras biológicas no mesmo dia da sua coleta na cooperativa. Não foi possível realizar ensaios controle com esgoto puro devido ao fato de o esgoto já chegar à ETE Icaraí misturado com lixiviado.

Para avaliação dos biomarcadores, os peixes foram medidos e pesados e foram coletadas amostras biológicas de sangue, bile, fígado e músculo dos peixes vivos (Figuras 10 a 15 – Anexo 1). Antes dos procedimentos invasivos de coleta de amostras, os peixes eram submetidos a uma solução de Eugenol (4-Alil-2-Metoxifenol), devido à sua propriedade anestésica.

Os biomarcadores avaliados abrangem níveis de organização individual, molecular e celular. Em nível individual, foram contabilizados o tamanho e o peso dos peixes e determinados os fatores de condição.

Em nível molecular, foram utilizados o nível de metalotioneína, como biomarcador de exposição a metais pesados; a atividade da enzima acetilcolinesterase, indicador de efeitos neurotóxicos decorrentes da exposição a agrotóxicos organofosforados e carbamatos, e a concentração de HPA's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) na bile, indicador de exposição a HPA's.

Em nível celular, foi realizada a contagem de micronúcleos e de outras anormalidades nucleares eritrocitárias, como indicativo de dano ao material genético das células, representando efeitos genotóxicos aos organismos.

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Estudos em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da ENSP/FIOCRUZ.

4.4.3. Análises dos Biomarcadores

Fator de Condição (FC)

Todos os peixes tiveram seu comprimento e peso medidos em laboratório, imediatamente antes das coletas de amostras biológicas. Para medição dos comprimentos, foi utilizada uma régua graduada de 30cm, com intervalos de 1mm. Os pesos foram determinados em uma balança eletrônica de precisão (marca Marte, modelo AL500), com capacidade de carga máxima de 500g e sensibilidade de 0,001g.

O Fator de Condição foi calculado por uma relação entre a média dos pesos e a média dos comprimentos dos peixes de determinado grupo amostral, por meio da fórmula $FC = peso \ x \ 100 \ / \ tamanho^3$. Os pesos dos peixes são indicados em gramas e os comprimentos em centímetros.

Metalotioneínas (MT)

O biomarcador metalotioneína foi analisado de acordo com o procedimento operacional padrão intitulado "Determinação de Metalotioneína em fígado de peixes por Polarografia" do Laboratório de Ecotoxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ, descrito a seguir, seguindo o Método de Brdicka (Raspor, 2001).

As avaliações de concentração de metalotioneínas foram realizadas em tecidos de fígado (glândula digestiva) de peixes. Os fígados foram retirados dos peixes com auxílio de tesoura e pinça. Os tecidos foram armazenados em freezer à temperatura de -20°C até o momento da análise.

Após descongelados, os fígados foram pesados e homogeneizados em solução Tampão Tris-Sacarose (Tris – 20mM; Sacarose – 0,5M, pH 8,6), na razão 3:1 (volume de tampão:peso de fígado).

Cada amostra de tecido homogeneizado foi centrifugada em centrífuga refrigerada, à 30000g, por 20 minutos, à 4°C. Foi retirado 100μL do sobrenadante do centrifugado com o auxílio de pipeta automática, ao qual se acrescentou 900μL de solução de Cloreto de Sódio (0,9%). Os tubos contendo o sobrenadante e o Cloreto de Sódio foram levados ao banho-maria a 70°C por 10 minutos.

Cada amostra foi centrifugada novamente, em centrifuga refrigerada, a 30000g, por 20 minutos, à 4°C. Retirou-se o sobrenadante com pipeta automática, o qual foi reservado em tubos eppendorf até o momento da análise.

Para a determinação da MT, foram colocados 10 mL de Eletrólito (Cloreto de Hexamina Cobalto – 6x10⁻⁴M, Cloreto de Amônio – 1M, Hidróxido de Amônio – 1M, pH 9,5) em cubetas (mantidas em banho de gelo).

Foram adicionados 100µL de cada amostra em uma cubeta no momento da análise.

As alturas do pico obtidas no Polarógrafo foram convertidas em µg/mL por meio de comparação com a curva padrão de MT (construída com o uso de uma solução padrão de metalotioneína de coelho, 10 mg/mL). As amostras foram diluídas para que os valores de altura de pico obtidos fossem compatíveis com as concentrações da curva padrão.

Acetilcolinesterase (AChE)

O biomarcador acetilcolinesterase foi analisado de acordo com o procedimento operacional padrão intitulado "Determinação da Atividade da Acetilcolinesterase em músculos de peixes. Modificado do método de Oliveira-Silva (2000) modificado de Ellman (1961)" do Laboratório de Ecotoxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ, descrito a seguir, de acordo com Oliveira-Silva *et al.* (2000) e Ellman *et al.* (1961).

As avaliações de inibição da enzima acetilcolinesterase foram realizadas em tecidos de músculo de peixes. Os músculos foram retirados dos peixes com auxílio de tesoura e pinça. Os tecidos foram armazenados em freezer à temperatura de -20°C até o momento da análise.

Após descongelados, os músculos foram pesados e homogeneizados em solução Tampão Fosfato de Sódio (0,12M, pH 7,6) na razão 1:6 (peso de músculo:volume de tampão).

Cada amostra de tecido homogeneizado foi centrifugada em centrífuga refrigerada, à 9000g, por 20 minutos, à 8°C. Foi retirado sobrenadante do centrifugado, com o auxílio de pipeta automática, e reservado em tubos eppendorf para posterior análise.

Para a determinação da AChE, foram preparados tubos com 2ml de tampão Fosfato de Sódio (0,12M, pH 7,6) e 500μL de DTNB (2mM, preparado em tampão fosfato de sódio 0,12M, pH 7,6).

No momento da análise foram adicionados 500μL de substrato Acetiltiocolina na concentração 18,3mM (anteriormente definida como ideal para peixes Tilápia) e 50μL do sobrenadante.

A leitura foi feita em espectofotômetro no modo cinético, com $\uplambda=412$ nm, por 2 minutos. As médias dos valores de absorvância obtidos, para cada amostra, foram convertidas em atividade enzimática em \upmu moles/min/mL por meio de comparação com uma curva padrão do aminoácido L-Cisteína.

Para a obtenção da atividade específica da AChE foi realizada a dosagem de proteínas totais nas amostra. A atividade específica da AChE é dada pela razão entre os valores de atividade enzimática de AChE e a respectiva concentração de proteína na amostra, sendo expressa em µmoles AChE/min/mg de proteína.

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)

O biomarcador HPA foi analisado de acordo com os procedimentos descritos em Freire (2008) e reproduzidos a seguir.

Para a avaliação da exposição dos peixes, foram analisados os metabólitos de HPA's de 2, 4 e 6 anéis, ou seja, metabólitos do tipo Naftaleno, metabólitos do tipo Pireno e metabólitos do tipo Benzo(a)pireno, respectivamente. Além disso, foi escolhido analisar, especificamente, o principal metabólito do Pireno, o 1-Hidroxipireno. Foi escolhido fazer a determinação desses metabólitos, pois eles representam tanto os HPA's oriundos do petróleo, como o Naftaleno, como os de origem pirogênica (Pireno e Benzo(a)pireno). Além disso, esses HPA's já vêm sendo

utilizados em muitos estudos de avaliação da contaminação ambiental através do uso de fluorescência biliar de peixes (Freire, 2008).

As avaliações das concentrações de metabólitos de HPA's foram realizadas em bile de peixes. As vesículas biliares foram extraídas com auxílio de tesoura e pinça e armazenadas, em tubos eppendorf, no freezer, à temperatura de -20°C, até o momento das análises.

Para determinação dos metabólitos biliares as amostras foram descongeladas em banho de gelo e sonicadas por 15 minutos. Após a sonicação estas foram diluídas em água/etanol em proporção de 50:50 (volume:volume).

Para a leitura dos metabólitos, as amostras foram diluídas para que a intensidade de fluorescência das amostras ficasse dentro da faixa de leitura do equipamento e também para impedir que ocorresse efeito de matriz. Este efeito é referido à absorção da luz que entra na cubeta, durante a medida de fluorescência, por outros constituintes presentes nas amostras de biles que não os HPA's (Freire, 2008).

As amostras foram analisadas em cubeta de quartzo em espectrofluorímetro. A presença dos metabolitos do Naftaleno, Pireno e Benzo(a)pireno foi analisada por método de Fluorescência de Comprimento de Onda Fixo - FF. Para avaliar a presença do 1-Hidroxipireno foi utilizado por método de Espectrometria de Fluorescência Sincronizada - SFS.

As concentrações dos metabólitos nas biles foram calculadas a partir da intensidade de fluorescência de cada composto por meio de comparação com curvas padrão para cada um dos HPA's. As concentrações dos metabólitos das biles foram expressas em equivalentes dos respectivos padrões de HPA's.

Determinaram-se as proteínas biliares totais e as suas concentrações em µg/mL. A fim de proceder à normalização pelo status alimentar, foi obtida a razão entre os valores de concentração de cada metabólito de HPA's e a respectiva concentração de proteína (Freire, 2008).

Micronúcleos (MN)

O método utilizado para avaliação de micronúcleos consiste na contagem, com auxílio de um microscópio, de células que contenham um ou mais micronúcleos citoplasmáticos. Os procedimentos de análise seguiram a descrição de Sánchez-Galán *et al.*. (1998).

As avaliações das contagens de micronúcleos foram realizadas em células de sangue (eritrócitos), coletado junto às brânquias dos peixes. Foi realizado esfregaço do sangue em lâminas de vidro, em duplicata.

As lâminas foram sequencialmente coradas com corante de May-Grünwald por 2 minutos, corante de May-Grünwald mais água destilada em proporção de 1:1 por 3 minutos e corante Giemsa mais água destilada em proporção de 1:6 por 10 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada e secas com Eukkit (acelerador de secagem).

A freqüência relativa de micronúcleos foi avaliada em microscópio ótico, com capacidade de ampliação de 1000 vezes. Foram contados em média 1000 eritrócitos mononucleados por lâmina como referência. Todas as contagens foram realizadas por um único observador, a fim de minimizar erros de interpretação. Uma imagem de célula de sangue de Tilápia com micronúcleo é apresentada na Figura 16 – Anexo 1.

Além de micronúcleos, foi avaliada a presença e realizada a contagem de outras anormalidades nucleares nas células de sangue das amostras coletadas, quais sejam: núcleos anômalos, núcleos bilobados, núcleos binucleados, núcleos trinucleados, núcleos tetranucleados, núcleos evaginados/brotos nucleares, núcleos invaginados, núcleos "blebbed" e núcleos fragmentados. Todas essas anormalidades foram agrupadas, para avaliação dos resultados, como "anormalidades nucleares eritrocitárias".

4.5. Análises Estatísticas

Foram realizados testes estatísticos para comparações entre os dados amostrais obtidos nos monitoramentos realizados. O programa de análises estatísticas utilizado foi o Minitab 15.

Como ponto de partida para todas as análises estatísticas, verificou-se a normalidade da distribuição dos dados amostrais para cada conjunto de dados avaliado. Os testes de normalidade realizados foram: Anderson-Darling, Ryan-Joiner e Kolmogorov-Smirnov, todos com nível de confiança de 95%. Os três testes foram aplicados a todos os conjuntos de dados.

Na etapa de monitoramento de indicadores físico-químicos, procederam-se comparações entre os conjuntos de valores obtidos para alguns parâmetros,

particularmente visando analisar o comportamento DQO e nitrogênio amoniacal entre os pontos de coleta de amostras. Optou-se, nesse caso, pelo uso de testes de hipótese que permitem a comparação de conjuntos de dados amostrais dois a dois. Foi usado o teste de média *Mann-Whitney Test* (não paramétrico), com nível de confiança de 95%, visto que havia ao menos um conjunto de dados com distribuição não normal em todas as comparações realizadas.

Para avaliação do monitoramento dos ensaios de ecotoxicidade aguda, também se optou pela comparação de conjuntos de dados amostrais dois a dois. O objetivo era avaliar, com o auxílio dos gráficos gerados, se houve aumento ou redução de toxicidade aos organismos-teste entre os pontos de coleta de amostras. Foram usados os testes de médias Teste T (paramétrico) e *Mann-Whitney Test* (não paramétrico), dependendo dos formatos das distribuições amostrais dos conjuntos de dados comparados, ambos com nível de confiança de 95%.

A análise estatística do monitoramento dos ensaios de ecotoxicidade crônica foi dividida por cada um dos biomarcadores avaliados. A opção adotada foram as análises de variância entre os dados amostrais dos grupos trabalhados. De acordo com a normalidade ou não da distribuição dos conjuntos de dados amostrais dos grupos comparados, foram usados os testes One Way ANOVA (paramétrico) e *Kruskal-Wallis Test* (não paramétrico), ambos com nível de confiança de 95%.

Na sequência aos testes de análise de variância, foram usados testes de comparações múltiplas (Post hoc Tests), para identificação dos conjuntos de dados amostrais que se diferenciavam dos demais entre os grupos comparados anteriormente. Foram usados os testes *Tukey's Test* (paramétrico) e *Mann-Whitney Test* (não paramétrico), ambos com nível de confiança de 95%. O teste *Tukey's Test* compara intervalos de confiança entre conjuntos de dados amostrais dos grupos dois a dois. O teste *Mann-Whitney Test* compara médias entre conjuntos de dados amostrais de dois grupos.

5. ARTIGOS DA COLETÊNEA

5.1. Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico como Alternativa para a Solução de Um Grave Problema Ambiental e de Saúde Pública – Revisão Bibliográfica

Artigo publicado no periódico *Cadernos de Saúde Coletiva* (ISSN: 1414 462X), número 19 (1), páginas 11 a 19, ano 2011.

Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterros de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico como Alternativa para a Solução de Um Grave Problema Ambiental e de Saúde Pública – Revisão Bibliográfica

Co-Treatment of Municipal Solid Waste Landfill Leachate and Domestic Wastewater as an Alternative Solution to a Serious Environmental and Public Health Problem - A Review

Camille Ferreira Mannarino⁽¹⁾, João Alberto Ferreira⁽²⁾ e Josino Costa Moreira⁽²⁾

- (1) Escola Nacional de Saúde Pública, FIOCRUZ
- (2) Universidade do Estado do Rio de Janeiro Depto. de Eng. Sanitária e do Meio Ambiente

RESUMO

A disposição de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos é um grande problema de saúde ambiental, com impactos sobre a saúde das populações que vivem em áreas circunvizinhas, devido às características poluentes deste lixiviado. Uma opção é coletar e direcionar o lixiviado para estações de tratamento de esgotos onde podem ser tratados conjuntamente com o esgoto doméstico. A viabilidade dessa opção depende da existência de rede coletora de esgotos próxima ao aterro e da capacidade da estação de tratamento em assimilar as cargas, sobretudo orgânica e nitrogenada, advindas do

lixiviado. Esse trabalho apresenta uma revisão bibliográfica sobre tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico. Os estudos realizados mostram que a quantidade limite de lixiviado a ser recebida em estações de tratamento sem comprometer a qualidade do efluente final não é fixa, dada a grande variabilidade da composição dos lixiviados. Entretanto, a maioria dos estudos não apresenta variações significativas de qualidade para efluentes do tratamento combinado com até 2% de volume de lixiviado.

ABSTRACT

The disposal of municipal solid waste landfill leachate is a major environmental health problem, with impacts on the health of people living in surrounding areas due to the characteristics of leachate pollutants. One option is to collect and direct the leachate to sewage treatment plants where it can be co-treated with domestic sewage. The viability of this option depends on the existence of sewerage near the landfill and the treatment plant capacity to absorb the loads, especially organic and nitrogen, stemming from leachate. This work presents a literature review on combined treatment of leachate and domestic sewage. Studies show that the quantity limit of leachate to be received on treatment plants without compromising the quality of the final effluent is not fixed, given the great variability in the composition of leachate. However, most studies presents no significant variations in quality for effluent treatment combined with up to 2% of the volume of leachate.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento combinado, Tratamento de Lixiviado, Tratamento de Esgotos, Estação de Tratamento de Esgotos.

KEYWORDS: Co-Treatment, Leachate Treatment, Domestic Wastewater Treatment, Wastewater Treatment Plant.

INTRODUÇÃO

Uma das dificuldades enfrentadas na implantação de aterros sanitários é o tratamento adequado do lixiviado gerado devido a suas características poluidoras. O lixiviado produzido nos aterros sanitários é decorrente da percolação, através das camadas do aterro, de líquidos de origem externa (águas de chuva, escoamento

superficial etc), da água gerada nos processos de decomposição dos resíduos orgânicos e da umidade inicial dos resíduos. No processo de percolação de líquidos através das camadas de resíduos no aterro, ocorre a solubilização de substâncias orgânicas e inorgânicas e o arraste de microorganismos e outros materiais biológicos formando um novo líquido de composição bastante variável.

O potencial poluidor do lixiviado está ligado principalmente aos altos valores de carga orgânica e nitrogenada que contém, prejudicando a biota nos ambientes que contamina. A incorporação de substâncias dissolvidas ou em suspensão que possuem características tóxicas contribui para aumentar o risco à saúde dos ecossistemas locais e para a saúde pública.

O tratamento combinado de lixiviado de aterro sanitário com esgoto doméstico em estação de tratamento de esgoto (ETE) pode se constituir em alternativa para minimizar os efeitos deletérios lixiviado ao meio ambiente. São requisitos para o tratamento combinado: a viabilidade do transporte do lixiviado até a ETE, a capacidade da estação em assimilar esse efluente, a compatibilidade do processo com as características desse material e a possibilidade do manejo do provável aumento de produção de lodo.

Os aterros sanitários Bandeirantes, São João, Vila Albertina e Santo Amaro, em São Paulo (SP), da Extrema, em Porto Alegre (RS), Salvaterra, em Juiz de Fora (MG), CTR-BR040, em Belo Horizonte (MG) e o aterro do Morro do Céu, em Niterói (RJ), são exemplos brasileiros de experiências de tratamento combinado de lixiviado e esgoto sanitário (Facchin *et al.*, 2000; Ferreira *et al.*, 2005; Paganini *et al.*, 2003).

Esse trabalho apresenta uma revisão bibliográfica a respeito do tratamento combinado de lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos e esgotos domésticos no sentido de permitir uma avaliação das suas vantagens e limitações. São apresentadas informações consolidadas sobre caracterização de lixiviados e esgotos e sobre o tratamento combinado dos dois efluentes em questão.

CARACTERÍSTICAS DOS LIXIVIADOS DE ATERROS DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS

A grande variabilidade observada na composição dos lixiviados é influenciada por fatores como as características e a fase de decomposição predominante dos resíduos depositados e a tecnologia utilizada na operação dos aterros. De forma geral, os lixiviados contêm elevadas concentrações de matéria orgânica dissolvida e de

alguns elementos e substâncias inorgânicas (Tabela 1).

Tabela 1 - Características físicas e químicas de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos.

	Concent	ração (mg/L , exc	eto pH)
Parâmetro	Aterros novos (m	enos de 2 anos)	Aterros antigos
Tarametro	Faixa de variação	Típico	(mais de 10 anos)
DBO_5	2.000 - 30.000	10.000	100 - 200
COT	1.500 - 20.000	6.000	80 - 160
DQO	3.000 - 60.000	18.000	100 - 500
Sólidos suspensos totais	200 - 2.000	500	100 - 400
Nitrogênio orgânico	10 - 800	200	80 - 120
Nitrogênio amoniacal	10 - 800	200	20 - 40
Nitrato	5 - 40	25	5 - 10
Fósforo total	4 - 100	30	5 - 10
Alcalinidade como CaCO ₃	1.000 - 10.000	3.000	200 - 1.000
рН	4,5 - 7,5	6,0	6,6 - 7,5
Dureza total como CaCO ₃	300 - 10.000	3.500	200 - 500

Fonte: Tchobanoglous et al., 1993.

Geralmente, há grande preocupação em relação à composição inorgânica dos lixiviados, particularmente relacionada a suas concentrações de metais pesados. A Tabela 2 mostra faixas de variação de concentração dos principais constituintes inorgânicos e metais tóxicos observados em lixiviados.

Estudos de toxicidade realizados com lixiviados de 14 aterros sanitários utilizando íons Cu(II), Hg(II) e Zn(II) como metais teste, indicam baixa toxicidade desses lixiviados devido à presença destes metais (Baun & Christensen, 2004). Isso se deve à elevada concentração relativa de ligantes orgânicos e inorgânicos presentes no lixiviado, capazes de reagirem com os íons metálicos diminuindo suas solubilidades e biodisponibilidades (Baun & Christensen, 2004).

Em geral, a concentração de metais no lixiviado é baixa (microgramas ou poucos miligramas por litro). Estima-se que uma fração menor que 0,02% dos metais tóxicos presentes nos resíduos são lixiviados dos aterros mesmo depois de 30 anos de operação (Kjeldsen *et al.*,2002). Os mecanismos responsáveis pela retenção dos metais no aterro são a sorção ao solo e ao material orgânico insolúvel bem como a precipitação sob a forma de sulfetos, hidróxidos ou carbonatos.

Tabela 2 - Composição química inorgânica de lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos.

Parâmetro	Faixa de variação de concentrações (mg/L)
Macroconstituintes inorgânicos	_
Cloreto	150 – 4500
Fósforo total	0.1 - 23
Sulfato	8 - 7750
Bicarbonato	610 - 7320
Sódio	70 - 7700
Potássio	50 - 3700
Cálcio	10 - 7200
Magnésio	30 - 15000
Ferro	0.08 - 5500
Manganês	0.01 - 1400
Sílica	4 - 70
Metais tóxicos	
Arsênio	0,005 - 1,6
Cádmio	0,00002 - 0,4
Cromo	0,005 - 1,5
Cobalto	0,005 - 1,5
Cobre	0,0005 - 10
Chumbo	0,0005 - 2
Mercúrio	0,00005 - 0,05
Níquel	0,0015 - 3,2
Zinco	0.03 - 150

Fonte: Adaptado de Kjeldsen et al. (2002) e Baun & Christensen, 2004.

Por outro lado, a formação de complexos e sorção aos colóides contribuem para elevar as concentrações de metais na fase aquosa (Tabela 3). De fato, os metais tóxicos têm grande afinidade por colóides e, assim, suas concentrações dependem da quantidade de material coloidal presente no lixiviado. Estudos recentes de especiação química realizada em lixiviados de aterros sanitários mostram que a concentração de íons metálicos livres é baixa e responde por menos de 30% da concentração total observada (Kjeldsen *et al.*,2002; Baun & Christensen, 2004).

Sob o ponto de vista microbiológico, o lixiviado pode conter microorganismos potencialmente patogênicos, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 3 - Espécies importantes de metais tóxicos em lixiviados de aterros de resíduos sólidos urbanos.

	Metais tóxic	eos
	Forma coloidal	Forma dissolvida
As	Inorgânico, provavelmente arsenato de ferro	Provavelmente H ₃ AsO ₃ (condições redutoras)
Cd	Associação com compostos orgânicos	Complexos orgânicos (dominante) Carbonatocomplexos Clorocomplexos Íon metálico livre
Cr	Associação com compostos orgânicos	Hidroxocomplexos (dominante)
Cu	Associação com compostos orgânicos Indicação de precipitação como sulfeto	Complexos orgânicos (dominate) Carbonatocomplexos
Ni	Associação com compostos orgânicos	Carbonatocomplexos (dominante) Complexos orgânicos
Pb	Associação a compostos orgânicos Possivelmente Pb ₅ (PO ₄)3Cl	Complexos orgânicos (dominante) Carbonatocomplexos
Zn	Associação com compostos orgânicos Indicação de precipitação com sulfetos	Complexos orgânicos Carbonatocomplexos (dominante) Íon metálico livre

Fonte: Baun & Christensen, 2004.

Tabela 4 - Microrganismos presentes no lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos.

Tipo	Organismo	Concentração
	Coliformes totais ¹	1,9 x 10 ⁹
	Coliformes fecais (termotolerantes)	1.7×10^9
	E. coli ¹	4.3×10^8
Bactérias	Enterococos ¹	2.7×10^8
	Estreptococos fecais ¹	6.7×10^9
	Pseudomonas aeruginosa ²	3.4×10^5
	Bactérias Heterotróficas ²	1.4×10^8
Fungos	_	$1,6 \times 10^8$

Observações: 1 NMP/100mL; 2 UFC/mL. Fonte: Silva, 2005.

A complexidade e a diversidade da composição química e biológica dos lixiviados, que encerra um grande número de substâncias tóxicas e de microorganismos patogênicos (Tabelas 1 a 4), sugerem que pode haver efeitos toxicológicos sinérgicos ou antagonistas entre seus constituintes. De fato, estudos sobre danos ao DNA têm encontrado correlações significativas em experimentos feitos na presença de lixiviados sem tratamento e em controles negativos (Barakare *et al.*, 2007).

Quando o lixiviado não é coletado e tratado adequadamente, como na grande maioria dos depósitos brasileiros, ele extravasa e geralmente contamina coleções hídricas. O consumo de águas contaminadas por lixiviados traz vários efeitos negativos à saúde humana, como casos de diarréia devido à ingestão de coliformes fecais bem como aumento do risco de cânceres para até 5 casos por 1.000.000 habitantes devido à presença de ftalatos nos lixiviados (Klinck & Stuart, 1999). A agência de proteção ambiental americana – USEPA (*sigla em inglês*) considera o risco de 1 caso de câncer em 1.000.000 habitantes como significativo, com recomendação de ações de remediação (USEPA, 1991).

A possibilidade de ocorreram ações antagonistas ou sinérgicas entre os inúmeros e variados constituintes do lixiviado faz com que o conhecimento existente de seus efeitos sobre a saúde humana seja ainda bastante limitado (Klinck & Stuart, 1999).

Adicionalmente, vários constituintes tóxicos presentes em baixas concentrações, que diretamente não trariam maiores consequências à saúde, podem ser bioacumulados ou biomagnificados em organismos expostos que, quando consumidos, trazem riscos à saúde das populações. Carne e leite de animais que se alimentam de vegetais desenvolvidos em áreas com solo contaminado por lixiviados são exemplos desses riscos (Sisinno & Oliveira, 2000). Efeitos negativos podem ser manifestados nos sistemas hepático e renal e no aparelho reprodutor, relacionados a exposições crônicas a baixas doses de substâncias químicas por meio de ingestão de alimentos contaminados (Sisinno & Oliveira, 2000).

CARACTERÍSTICAS DOS ESGOTOS DOMÉSTICOS

Esgotos domésticos são constituídos por água (>99%) contendo geralmente baixas concentrações de material orgânico e inorgânico dissolvido ou em suspensão. Dentre as principais substâncias orgânicas comumente encontradas nos esgotos, há carboidratos, lignina, gorduras, sabões, detergentes, proteínas e seus produtos de decomposição, além de outras substâncias naturais ou sintéticas, como resíduos de

medicamentos (Jordão & Pessôa, 2005; Von Sperling, 2005).

Os esgotos domésticos podem também apresentar metais tóxicos como As, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Zn etc que, dependendo das concentrações de suas formas biodisponíveis, podem ser danosos aos organismos (Tsutiya, 1999). Entretanto, a biodisponibilidade dos metais é influenciada pela presença de material particulado, colóides e de ligantes orgânicos e inorgânicos.

A Tabela 5 mostra os maiores constituintes do esgoto municipal bem como suas faixas de variação. Vírus, bactérias, protozoários e helmintos podem estar presentes nos esgotos, como apresentado na Tabela 6, e causar transtornos a saúde.

Tabela 5 - Características físico-químicas do esgoto doméstico típico.

		Concentração	
Parâmetro	Unidade	Faixas de Variação	Valor Típico
Sólidos Totais	mg/L	700 - 1350	1100
Em suspensão	mg/L	200 - 450	350
Fixos	mg/L	40 - 100	80
Voláteis	mg/L	165 - 350	320
Dissolvidos	mg/L	500 - 900	700
Fixos	mg/L	300 - 550	400
Voláteis	mg/L	200 - 350	300
Sedimentáveis	mg/L	10 - 20	15
Matéria Orgânica			
DBO_5	mg/L	250 - 400	300
DQO	mg/L	450 - 800	600
DBO _{última}	mg/L	350 - 600	450
Nitrogênio Total	mgN/L	35 - 60	45
Nitrogênio orgânico	mgN/L	15 - 25	20
Amônia	mgN-NH ₃ /L	20 - 35	25
Nitrito	$mgN-NO_2^{-}/L$	≈ 0	≈ 0
Nitrato	$mgN-NO_3/L$	0 - 1	≈ 0
Fósforo	mgP/L	4 - 15	7
Fósforo orgânico	mgP/L	1 - 6	2
Fósforo inorgânico	mgP/L	3 - 9	5
pН	_	6,7 - 8,0	7,0
Alcalinidade	mgCaCO ₃ /L	100 - 250	200
Metais pesados	mg/L	traços	traços
Comp. orgân. tóxicos	mg/L	traços	traços

Fonte: Von Sperling (2005).

Tabela 6 - Microrganismos e parasitas presentes nos esgotos domésticos.

Tipo	Organismo	Concentração (org/100mL)
	Coliformes totais	$10^6 - 10^{10}$
	Coliformes fecais (termotolerantes)	$10^6 - 10^9$
	E. coli	$10^6 - 10^9$
	Clostridium perfringens	$10^3 - 10^5$
Bactérias	Enterococos	$10^4 - 10^5$
	Estreptococos fecais	$10^4 - 10^7$
	Pseudomonas aeruginosa	$10^3 - 10^6$
	Shigella	$10^0 - 10^3$
	Salmonela	$10^2 - 10^4$
	Cryptosporidium parvum (oocistos)	$10^1 - 10^3$
Protozoários	Entamoeba histolytica (cistos)	$10^1 - 10^5$
	Giardia lamblia (cistos)	$10^1 - 10^4$
II almain 4 a a	Helmintos (ovos)	$10^0 - 10^3$
Helmintos	Ascaris lumbricoides	$10^2 - 10^3$
1 7/	Vírus entéricos	$10^2 - 10^4$
Vírus	Colifagos	$10^3 - 10^4$

Fonte: Von Sperling (2005).

Avaliações a respeito do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico devem ser feitas no sentido de buscar identificar possíveis alterações causadas ao afluente à ETE, após a mistura de lixiviado e esgoto, e ao efluente tratado. É preciso tentar identificar se as diferenças entre as composições de lixiviado e esgoto, misturados em proporções diversas, são suficientes para inibir os tratamentos existentes nas ETE's e se podem, eventualmente, afetar a toxicidade do efluente tratado.

TRATAMENTO COMBINADO DE LIXIVIADO DE ATERROS DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS E ESGOTO DOMÉSTICO

Embora no Brasil não existam leis em nível nacional específicas que controlem o descarte de lixiviados de aterros de resíduos, no sentido de reduzir a poluição de corpos hídricos, a agência de proteção ambiental americana – USEPA (sigla em inglês) estabeleceu limites para lançamentos de lixiviados de aterros de resíduos e padrões de pré-tratamento para descarga desses efluentes em sistemas públicos de tratamento de esgotos (USEPA, 2000). No ano 2000, a USEPA estimava que 756 aterros de resíduos não-perigosos descartavam suas águas residuárias em sistemas públicos de tratamento de esgotos (USEPA, 2000).

No início da década de 1990, Tchobanoglous *et al.* (1993) relatam que, em locais onde o aterro de resíduos está localizado próximo a um sistema coletor de águas residuárias, o lixiviado pode ser encaminhado para tratamento em estações de tratamento de esgotos. Os autores ponderam que a adoção de pré-tratamentos pode ser necessária, em alguns casos, para reduzir a carga orgânica antes do lançamento do lixiviado na rede coletora.

McBean *et al.* (1995) também apresentam o tratamento combinado com esgoto doméstico como uma forma bastante utilizada para se tratar lixiviados de aterros de resíduos sólidos e reforçam a idéia de que a relação volumétrica entre o lixiviado e o esgoto não deve ultrapassar 2% para evitar problemas no tratamento.

Um argumento a favor do tratamento combinado é que o lixiviado possui elevadas concentrações de nitrogênio, enquanto que o esgoto possui elevadas concentrações de fósforo, de forma que esses nutrientes não precisam ser adicionados em plantas de tratamento biológico (Lema *et al.*, 1988).

Dificuldades para o tratamento combinado são impostas pelas altas concentrações de substâncias orgânicas e inorgânicas, oriundas de lixiviados de aterros novos e velhos, respectivamente. Outros problemas possíveis decorrentes do tratamento combinado podem ser a corrosão de estruturas e problemas operacionais derivados da precipitação de óxidos de ferro (Cossu, 1982 *apud* Lema *et al.*, 1988). Além disso, eventuais concentrações elevadas de metais podem inibir a atividade biológica do lodo e inviabilizar a sua utilização futura como fertilizante. Grandes volumes de lixiviado adicionados ao sistema de tratamento de esgotos podem ainda resultar em efluentes tratados com elevadas concentrações de matéria orgânica e nitrogênio amoniacal (Boyle & Ham, 1974; Lema *et al.*, 1988).

Diversos estudos buscam avaliar a viabilidade do tratamento de lixiviados de forma conjunta com esgoto doméstico. Busca-se conhecer os impactos da adição de lixiviado nos sistemas de tratamento e na qualidade do lodo e do efluente final. Uma síntese de estudos desenvolvidos em escala de laboratório, piloto e em estações de tratamento de esgotos são apresentados na Tabela 7, com suas principais características e observações feitas pelos autores.

Tabela 7 – Estudos de tratamento combinado de lixiviado e esgotos domésticos.

Autores	Características do tratamento	Percentuais de lixiviado	Observações do estudo
Boyle & Ham (1974)	- reatores de lodos ativados com aeração prolongada	0% a 20%	 aumento da produção de sólidos, do consumo de oxigênio e da taxa volumétrica de lodo bastante significativo acima de 10% de lixiviado; efluentes do tratamento com 10% e 20% de lixiviado com elevadas concentrações de sólidos suspensos, DBO e DQO; recomendação de adição de lixiviado até o limite de 5% para não impactar significativamente a qualidade do efluente.
Kelly (1987)	- planta piloto de lodos ativados com duas linhas: com adição de lixiviado (teste) e sem adição de lixiviado (controle)	4% e 16%	 remoção de DQO de 69% com 16% de lixiviado e de 71% com 4%; remoções de 10 a 15% maiores na linha controle do que na linha teste; remoção de N-NH₃de até 80% na linha teste com 4% de lixiviado; produção de lodo maior na linha teste; aumento da concentração de metais no lodo na linha teste, ainda que sem ultrapassar os limites estabelecidos para o uso agrícola do solo.
Chang et al.(1995)	- reatores de lodos ativados e de digestão anaeróbia de lodo em laboratório	0,2%, 1,0%, 10%, 25% e 50%	 concentrações de 0,2% e 1,0% de lixiviado: remoções de DBO acima de 90%, de DQO acima de 80% e queda com o aumento das concentrações; remoção de nitrogênio amoniacal diminuiu após a concentração de 1% de lixiviado, passando a próxima de 30% nas concentrações maiores; remoção de sólidos suspensos aumentou nas maiores concentrações; ausência de alterações na digestão anaeróbia do lodo com até 1% de lixiviado.
Diamado- poulos et al. (1997)	 reator de lodos ativados operado em batelada seqüencial (enchimento, fase anóxica, fase aeróbia, decantação e drenagem) 	10%	 - 70 a 98% de remoção de DBO e 35 a 50% de remoção de nitrogênio total; - nitrificação do nitrogênio amoniacal aconteceu quase totalmente na fase aeróbia; - denitrificação ocorreu preferencialmente na fase de enchimento; - inclusão de uma fase anóxica após a fase aeróbia aumentou a remoção de nitrogênio total.

Tabela 7 – Continuação

Autores	Características do tratamento	Percentuais de lixiviado	Observações do estudo
Ehrig (1998)	- reatores de lodos ativados em laboratório	1 a 16%	 valores de DBO e DQO nos efluentes finais crescentes com o aumento da proporção de lixiviado; possível aumento efetivo de DBO e DQO nos efluentes finais por deficiência de fósforo em comparação à adição de carga orgânica não-biodegradável; velocidade de sedimentação do lodo aumentou com a adição de lixiviados.
Cossu <i>et al.</i> (1998)	 seqüências de reatores anaeróbios, anóxicos e aeróbios em laboratório (teste e controle) 	1 a 5%	 eficiências de remoção de nitrogênio e fósforo e velocidades de nitrificação e denitrificação maiores na linha operada com lixiviado e esgoto; não foram notados indicativos de inibição do processo biológico nem problemas de instabilidade nos reatores.
Borghi <i>et al.</i> (2001)	- reatores de lodos ativados operando em batelada	0,1, 2, 3, 5, 7,5, 10, 15 e 20%	 remoção de DQO acima de 85% nas diluições até 5%, decrescendo nas superiores; remoção de N-NH₃ reduziu-se gradualmente com volumes de lixiviado entre 1% e 7,5% e manteve-se constante entre 10% e 20% de lixiviado; os autores consideraram 10% de volume de lixiviado como um limite prático.
Çeçen & Çakiroğlu (2001)	- reatores de lodos ativados operando em batelada	5% a 20%	 redução na remoção de DQO no efluente quando carga de DQO do lixiviado se aproxima de 50% da carga total; elevada remoção de N-NH₃ para relação DQO/NTK menor do que 3 e redução da nitrificação com maiores concentrações iniciais de NTK; recomendação que o volume de lixiviado não ultrapasse 20% do de esgotos.
Aktaș & Çeçen (2001)	- reatores de lodos ativados com adição de carvão ativado	5%, 10% e 15%	 carvão ativado adsorveu compostos não biodegradáveis, reduzindo a DQO residual, e favoreceu a nitrificação; houve acumulação de nitritos, indicando a inibição de nitrobactérias.
Çeçen <i>et al.</i> (2003)	- reatores de lodos ativados com adição de carvão ativado	5% a 25%	 presença de lixiviado no tratamento de esgotos pode levar a uma redução da capacidade de secagem do lodo produzido; carvão ativado auxilia na remoção da DQO residual e na posterior secagem do lodo.

Tabela 7 – Continuação

Autores	Características do tratamento	Percentuais de lixiviado	Observações do estudo
Henry (1985)	- ETE por lodos ativados	0 a 5%	- até 2% de lixiviado, não há alterações significativas no desempenho da ETE; - de 4 a 5% de lixiviado, o desempenho da ETE pode ser comprometido.
Booth <i>et al.</i> (1996)	- ETE por lodos ativados	média de 0,14%	 aumento do consumo de oxigênio na ETE em torno de 2% devido à adição do lixiviado; produção de lodo na ETE aumentada em 2,3%; concentração de metais no lodo abaixo dos limites das leis canadenses.
Marttinen et al. (2003)	- 4 ETEs por lodos ativados	1	- ftalatos, HPA's e compostos orgânicos nitrogenados detectados em esgotos e lixiviados em concentrações baixas $(0.05-17\mu g/L)$; - concentrações de Bis (2-etilhexil) ftalato (DEHP) de até $122\mu g/L$, semelhante nos esgotos domésticos puros e nos esgotos com contribuições de lixiviados; - lixiviado contribui com menos de 1% do total de DEHP recebido nas ETEs.
Facchin et al. (2000)	- ETE por lagoas (anaeróbia, facultativa e de maturação)	0,3 a 10,7%, (valor médio: 3,2%)	 importância do controle do aporte de nitrogênio amoniacal pois pode ser tóxico a algas; aumento da remoção de carga orgânica e de nutrientes com até 4,1% de lixiviado.
Castro (2001)	- ETE piloto por lagoas (anaeróbia, facultativas)	0, 6, 11, 20 e 100%	 baixa correlação entre DQO afluente e eficiência de remoção de DQO para as misturas de esgoto e lixiviado; eficiência de remoção de nitrogênio amoniacal de 87,5% para esgoto puro e de 82,5% para esgoto e lixiviado; reduzida concentração de metais nos efluentes e aumento no lodo.
Fueyo <i>et al.</i> (2002)	- reatores de digestão anaeróbia em laboratório	30, 50, 70 e 100 %	- efeito sinérgico positivo na biodegradabilidade das misturas lixiviado-esgoto; - o tratamento combinado potencializa os resultados individuais de remoção.
Fueyo <i>et al.</i> (2003)	- sistema piloto anaeróbio do tipo UASB	30, 50, 70 e 100 %	 efeito sinérgico na biodegradabilidade das misturas lixiviado e esgoto não observado; aumento da capacidade de tratamento do lixiviado quando associado ao esgoto doméstico.

CONCLUSÕES

De acordo com os dados disponíveis, a eficiência do tratamento combinado reside no estabelecimento de faixas de cargas orgânica carbonácea e nitrogenada advindas do lixiviado a ser misturado com esgoto doméstico, em função da capacidade de tratamento das estações de tratamento de esgotos. Não existe um limite fixo para o percentual em volume de lixiviado a ser recebido em ETE de forma a não comprometer o tratamento. Alguns autores consideram o limite prático com sendo entre 10 e 20% em volume, enquanto outros trabalham com uma relação de até 2%, de forma a não implicar em má qualidade do efluente tratado.

A grande variabilidade das características dos lixiviados reforça a necessidade de se avaliar a viabilidade do tratamento combinado com esgoto doméstico para cada caso específico, sobretudo se a ETE receber outros efluentes não domésticos para tratamento.

O provável aumento de lodo nas estações que operam por processo de lodos ativados, decorrente da adição de lixiviado, exige que sejam previstos processos de tratamento e disposição final do mesmo. Caso a concentração de metais no lixiviado seja elevada, o monitoramento do lodo gerado nas estações será necessário pois pode haver adsorção desses metais no lodo. Uma maior demanda do sistema de aeração também deve ser prevista nos tratamentos aeróbios.

Os estudos desenvolvidos para avaliação do tratamento combinado de lixiviados de aterros sanitários e esgotos domésticos vêm monitorando, sobretudo, a remoção de cargas orgânicas, em termos de DBO e DQO, e de nutrientes. Pesquisas relativas à toxicidade desses efluentes tratados de forma combinada e ao biomonitoramento de organismos submetidos a esses efluentes não são correntemente encontradas na literatura a despeito da sua importância na preservação do equilíbrio ambiental e da saúde humana. Isso reforça a necessidade de serem desenvolvidos novos estudos buscando conhecer melhor os impactos dos efluentes tratados das ETEs na saúde pública.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FINEP, à Caixa Econômica Federal e ao apoio do CNPq. Essa revisão bibliográfica está vinculada a um projeto de pesquisa integrante do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB 5.

REFERÊNCIAS

AKTAŞ, Ö; ÇEÇEN, F. Additionof Activated Carbon to Batch Activated Sludge Reactors in The Treatment of Landfill Leachate and Domestic Wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 76, p. 793-802, 2001.

BARAKARE, A.A.; PANCLEY, A.K.; BAJPAYEE, M.; BHARGAV, D.; CHOWDHURI, D.K.; SINGH, K.R.; MURTHY, R.C.; DHAWAN, A. DNA Damage Induced in Human Peripheral Blood Lymphocytes by Industrial Solid Waste and Municipal Sludge Leachates. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v.48 (1), p.30-37, 2007.

BAUN, D.L.; CHRISTENSEN, T.H. Speciation of Heavy Metals in Landfill Leachate: A Review. *Waste Management & Research*, v. 22, n.1, p. 3-23, 2004.

BOOTH *et al.* Assessing the Impact of a Landfill Leachate on a Canadian Waste Water Treatment Plant. *Water Environment Research*, v.68, n.7, p. 1179-1186, 1996.

BORGHI *et al.* Combined Treatment of a Mixture of Old and Young Leachates with Wastewater by Activated Sludge System. In: *Proceedings of Sardinia* – Eighth International Waste Management and Landfill Symposium, 2001, S. Margherita di Pula. Cagliari (Italy): CISA – Environmental Sanitary Engineering Centre, 2001.

BOYLE, W.C.; HAM, R.K. Biological Treatability of Landfill Leachate. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v. 46, n. 5, p. 860 - 873, 1974.

CASTRO, M.C.A.A. Avaliação de um Sistema Australiano de Lagoas no Tratamento Conjunto de Esgoto Sanitário e Líquidos Percolados Gerados em Aterro Sanitário. Tese de Doutorado – Escola de Engenharia São Carlos – Universidade de São Paulo. São Carlos, 2001.

ÇEÇEN, F.; ÇAKIROĞLU, D. Impact of Landfill Leachate on the Cotreatment of Domestic Wastewater. *Biotechnology Letters*, v.23, p. 821–826, 2001.

ÇEÇEN F.; ERDINÇLER, A.; KILIÇ, E. Effect of Powdered Activated Carbon Addition on Sludge Dewaterability and Substrate Removal in Landfill Leachate Treatment. *Advances in Environmental Research*, v. 7, p. 707–713, 2003.

CHANG, D. *et al.* Feasibility of Combined Treatment of Leachate from a Mature Codisposal Landfill and Its Pretreatment Option. In: *Proceedings of Sardinia* – Fifth International Landfill Symposium, 1995, S. Margherita di Pula. Cagliari (Italy): CISA – Environmental Sanitary Engineering Centre, 1995.

COSSU, R. Ingegnieria Ambientale, v. 11, p. 564, 1982 *apud* LEMA, J.M.; MENDEZ, R.; BLAZQUEZ, R. Characteristics of Landfill Leachates and Alternatives for Their Treatment: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.40, p.223-250, 1988.

COSSU, R. *et al.* Biological Removal of Nutrients in Co-treatment of Leachate and Sewage. In: *Proceedings of International Training Seminar*: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate, 1998, Venice, p. XXXIII-1 a XXXIII-13. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.

DIAMADOPOULOS, E. *et al.* Combined Treatment of Landfill Leachate and Domestic Sewage in a Sequencing Batch Reactor. *Water Science & Technology*, v. 36, p. 61-68, 1997.

EHRIG, H. J. Co-treatment in Domestic Sewage Facilities. In: *Proceedings of International Training Seminar*: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate, 1998, Venice, p. XI-1 a XI-10. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.

FACCHIN, J. M. J. et al. Avaliação do Tratamento Combinado de Esgoto e Lixiviado de Aterro Sanitário na ETE LAMI (Porto Alegre) após o Primeiro Ano de Operação. In: Anais do 27º Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000, Porto Alegre. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

FERREIRA, J. A. *et al.* Plano de Gestão do Encerramento do Aterro do Morro do Céu em Niterói (RJ). In: *Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2005, Campo Grande. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.

FUEYO, G.; GUTIERREZ, A.; BERRUETA, J. Anaerobic Degradation: The Effect of The Combined Treatment of Substrates on The Refractory Fraction. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v.77, p.910-916, 2002.

FUEYO, G.; GUTIERREZ, A.; BERRUETA, J. Kinetics of Anaerobic Treatment of Landfill Leachates Combined With Urban Wastewaters. *Waste Management & Research*, v. 21, p.145-154, 2003.

HENRY, J. G., New Developments in Landfill Leachate Treatment. In: *Proc. New* Directions and Research in Waste Treatment and Residuals Management, Univ. of Brit. Columbia, v. 1, p. 139, 1985 *apud* KELLY, H.G. Pilot Testing for Combined Treatment of Leachate from a Domestic Waste Landfill Site. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v.59, n.5, p.254-261, 1987.

JORDÃO, E.P.; PESSÔA, C.A. Tratamento de Esgotos Domésticos. Rio de

Janeiro: ABES, 2005.

KELLY, H.G. Pilot Testing for Combined Treatment of Leachate from a Domestic Waste Landfill Site. *Journal of Water Pollution Control Federation*, v.59, n.5, p.254-261, 1987.

KJELDSEN, P.; BARLAZ. M.A.; ROOKER, A.P.; BAUN, A.; LEDIN, A.; CHRISTENSEN, T.H. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 32, n.4, p.297-336, 2002.

KLINCK, B.A.; STUART, M. E. *Human Risk in Relation to Landfill Leachate Quality*, TECHNICAL REPORT WC/99/17. United Kingdom: British Geological Survey, 1999.

LEMA, J.M.; MENDEZ, R.; BLAZQUEZ, R. Characteristics of Landfill Leachates and Alternatives for Their Treatment: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.40, p.223-250, 1988.

McBEAN, E.A. et al. Solid Waste Landfill Engineering and Design. Prentice Hall, New Jersey, 1995.

MARTTINEN, S. K., KETTUNEN, R. H., RINTALA, J. A. Occurrence and Removal of Organic Pollutants in Sewages and Landfill Leachates. *The Science of the Total Environmental*, p. 1-12, v. 301, 2003.

PAGANINI, W.S.; BOCCHIGLIERI, M.M.; LOPES, G.F. Avaliação da Capacidade das Estações de Tratamento de Esgotos do Sistema Integrado da Região Metropolitana de São Paulo – RMSP – para o Recebimento do Chorume Produzido nos Aterros Sanitários da Região. In: *Anais do 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2003, Joinville. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003.

SILVA, C.A.M.C. Caracterização Microbiológica de Lixiviados de Resíduos Sólidos de Serviços de Saúde e Resíduos Domiciliares. Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro: PEAMB/UERJ, 2005.

SISINNO, C.L.S.; OLIVEIRA, R.M. (Org). *Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde – Uma Visão Multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000.

TCHOBANOGLOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S. A. *Integrated Solid Waste Management – Engineering Principles and Management Issues*. McGraw-Hill International Editions, 1993.

TSUTIYA, M.T. Metais Pesados: O Principal Fator Limitante para O Uso Agrícola de Biossólidos das Estações de Tratamento de Esgotos. In: *Anais do 20º*

Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.

USEPA – Environmental Protection Agency (US). Role of the Baseline Risk Assessment in Superfund Remedy Selection Decisions - Memorandum from D. R. Clay, OSWER DIRECTIVE 9355.0-30. United States, Washington: 1991.

USEPA – Environmental Protection Agency (US). 40 CFR Parts 136 and 445. Effluent Limitations Guidelines, Pretreatment Standards, and New Source Performance Standards for the Landfills Point Source Category; Final Rule. United States, Washington: 2000.

VON SPERLING, M. *Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos*. Belo Horizonte: DESA/UFMG, 2005.

5.2. Assessment of Combined Treatment of Landfill Urban Solid Waste Leachate and Sewage Using *Danio rerio* and *Daphnia similis*

Artigo publicado no periódico *Bulletin of Environmental Contamination* and *Toxicology* (ISSN: 0007-4861 – versão impressa; ISSN: 1432-0800 – versão eletrônica), número 85, páginas 274 a 278, ano 2010.

Assessment of Combined Treatment of Landfill Urban Solid Waste Leachate and Sewage Using *Danio rerio* and *Daphnia similis*

Camille F. Mannarino¹, João Alberto Ferreira², Josino C. Moreira¹, Daniele M. Bila², Danielly P. Magalhães¹

¹ Public Health National School- ENSP/FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões 1480, CESTEH, Manguinhos – 21045-900 - Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

² Department of Sanitary and Environmental Engineering, State University of Rio de Janeiro (UERJ), Av. São Francisco Xavier, 524, sala 5029 - F, Prédio João Lira Filho, Maracanã - 20550-900 - Rio de Janeiro, RJ, Brazil

ABSTRACT

The co-treatment from Morro do Céu landfill leachate with domestic sewage in the Icaraí STP was monitored with regard to the behavior of toxicity of its inflows and outflow. Leachate not exceeded 1.5% in volume in the plant. The acute ecotoxicological tests showed that, although leachate is far more harmful to D. rerio (LC50 \approx 4) and D. similis (LC50 \approx 5%) than sewage (LC50 \approx 62%; LC50 \approx 22%), statistically the mixture of leachate with sewage did not result in a more toxic inflow (LC50 \approx 57%; LC50 \approx 12%) for treatment than raw sewage. After treatment, the outflow toxicity (LC50 \approx 76%; LC50 \approx 16%) complied with the environmental laws.

KEY WORDS

Leachate treatment, co-treatment, aquatic toxicity, Morro do Céu's landfill

The combined treatment of sanitary landfill leachate with domestic sewage in a sewage treatment plant (STP) is adopted in a number of countries in order to reduce landfill operating costs, where the cost of leachate treatment may be quite high, especially when it is still necessary even after decades of the landfill shuting down (Diamadopoulos *et al*, 1997; Ehrig, 1998; Marttinen *et al*, 2003).

If, from the operating aspect of landfills, the combined treatment may be a solution for the difficulties found in treating leachate separately, from the operating aspect of sewage treatment plants, the question is about interferences that leachate might cause in the treatment processes, including the increase in toxicity of the treated effluent. Such questions arose from the different characteristics of leachate in relation to domestic sewage, such as high concentrations of recalcitrant organic compounds, ammonia nitrogen and salinity.

The purpose of this study is to assess the efficiency of the combined treatment of leachate from an urban solid waste landfill in a sewage treatment plant using ecotoxicological testing as one of the key tools.

MATERIALS AND METHODS

The combined treatment of Morro do Céu landfill leachate in Icaraí STP was monitored throughout more than one year. Monitoring consists of acute ecotoxicological tests, plus physicochemical characterization and assessment of the inflows and outflow of the treatment, in order to check whether the introduction of leachate impaired the efficiency of treatment in Icaraí STP.

Morro do Céu landfill is located approximately 10km from the center of Niterói (Rio de Janeiro State, Brazil). Currently the landfill receives around 750 tons of solid waste a day. Since 2004, all leachate produced in the landfill has been sent for treatment to the STP in Icaraí neighborhood. Icaraí STP primary treatment is chemically assisted, consisting of screening, grit removal, coagulant mixing tank, settling tank and sludge dewatering. The plant effluent is sent to treatment in a sea outfall. It is worth to mention that the inflow to Icaraí STP now consists of domestic sewage plus the leachate from Morro do Céu landfill.

Flow monitoring data were assessed to determine the proportion of leachate in relation to sewage in Icaraí STP. Daily flow data were assessed between January 2007 and September 2008.

Samples of the mixture of sewage plus inflowing leachate and the outflow of Icaraí STP, of the raw sewage contribution to the plant and leachate from Morro do Céu landfill were collected for characterization and ecotoxicological tests. The samples of the inflow to the plant were collected after the bar screening and before the fine grating in Icaraí STP; samples of outflow were collected in a passage box that combined outlet pipes of the four settling tank existing in Icaraí STP; raw sewage samples were collected in a manhole after São Francisco pumping station at the corner of Rua Lemos Cunha with Avenida Almirante Ary Parreiras; leachate samples were collected in Morro do Céu landfill at the spillway located before the leachate inlet in the line connecting the landfill to the sewage collection network.

The physicochemical characterization tests were performed in the Sanitary Engineering Laboratory (LES/UERJ), in samples collected between April 2007 and September 2008. The parameters analyzed and their analytical methods numbers in accordance with APHA (2005) were: pH (4500-H⁺), turbidity (2130 B), colour (2120 B), BOD₅ (5210 B), COD (5220 B), chloride (4500-Cl⁻ B), total dissolved solids (2540 C), total suspended solids (2540 D), ammonia nitrogen (4500-NH₃ F) and phosphorus (4500-P E).

The test-organisms used on ecotoxicological tests were *Danio rerio* (zebrafish) and *Daphnia similis* (microcrustacean). The tests were performed in the Environmental Health Promotion and Assessment Laboratory of Oswaldo Cruz Foundation under CETESB (1990) and ABNT (2003) standards, with adaptations. *Danio rerio* test-organisms were purchased at a fish breeding and remained in acclimation for 10 days in aquarium supplied with filtered and dechlorinated water before tests using. *Daphnia similis* were cultivated in laboratory in reconstituted water (hardness between 40 and 48mg/L CaCO₃) and fed with *Ankistrodesmus falcatus* algae. The exposure time of each test was 48 hours. The samples were collected between November 2006 and February 2008, totaling eleven test groups. Each test group covers those tests on fish and microcrustaceans for all samples collected on a certain day.

Statistical tests were done using the Minitab 15 software. Hypothesis tests were used to compare two samples data: T Test average testing (parametric) and Mann-Whitney Test (non parametric), both with a confidence level of 95%.

RESULTS AND DISCUSSION

The leachate volume in relation to the sewage volume treated in the STP was stable between 0.37% and 1.22%, not exceeding the 2% recommended for studies on combined leachate-sewage treatment (Henry, 1985; McBean *et al*, 1995).

Table 1 shows the results of monitoring the leachate from Morro do Céu landfill, the raw sewage contributing to Icaraí STP and inflow and outflow of Icaraí STP. For each parameter the average value and interval of range between the minimum and maximum values are presented, relating to the set of monitoring results obtained.

Table 1 - Characterization of leachate from Morro do Céu, contributing sewage, Icaraí STP inflow and outflow.

		Morro do Céu Landfill / Icaraí STP							
Parameter	Unit	Leachate		Raw sewage		STP inflow		STP outflow	
		(N=25)		(N=25)		(N=29)		(N=29)	
		Average	Range	Average	Range	Average	Range	Average	Range
рН	_	7.9	7.5 -	7.2	6.7 -	7.1	6.3 -	7.1	6.5 -
pri	_	1.7	8.5	7.2	7.6	,.1	7.5	7.1	7.4
Turbidity	UNT	VT 21.3	2.0 -	99.0	11.0 -	167	20.6 -	61	11.4 -
•	OTT	21.3	70.5	<i>)) (i i i i i i i i i i</i>	328.4	107	584.2		155.8
Real	CU	3,145	1,148 –	170	67 -	274	86 -	165	76 -
colour	CO	3,113	6,200	170	298	271	655	103	445
BOD_5	mg	421	158 -	103	74 -	185	105 -	96	22 -
2023	O_2/L	.21	815	105	141	100	553	, ,	173
COD	mg	1,428	685 –	172	53 -	381	124 -	169	69 -
COD	O_2/L	1,.20	1,913	172	316		936	10)	417
Chlorides mg/	mg/L	/L 2,095	247 –	68	28 -	117	49 -	174	33 -
Cinoriaes	mg/L 2	2,000	5,727	00	163	117	563		984
TDS 1	mg/L 5,67	5,677	4,590 –	368	187 -	603 4/5 940	293 -	389	20 -
125	1116/12	2,077	7,623	200			207	840	
TSS	mg/L	114	40 -	169	100 -	279	87 -	129	58 -
155	1116, 2	11.	473	10)	250	_,,	500		570
NH ₃ -N	mg NH ₃ - 904	522 –	0.1	11 -	22	17 -	22	20 -	
		904	1,394	31	70 32	32	63	33	51
	N/L								
P	mg/L	5.5	5.4 -	3.8	2.7 -	3.8	3.8 -	3.8	3.7 -
		J.J	5.5	4.9	2.0	3.9	3.0	3.9	

Note: N= number of samplings.

Statistical tests using COD sample data (T Test and Mann-Whitney Test, α =0,95) permit to infer that, since leachate has a significantly higher COD than the raw sewage, when these two inflows are mixed there is an increase in the COD value at the STP inflow in relation to the COD value of raw sewage. It may also be inferred that COD is removed from the inflow to the outflow of the STP.

Statistical tests (T Test and Mann-Whitney Test, α =0,95) permit also to infer that although the leachate has a significantly larger concentration of ammonia nitrogen at the STP inflow, the mixture of these two inflows does not increase the ammonia nitrogen at the STP inflow in relation to raw sewage. It is also concluded that the ammonia nitrogen concentrations are not altered from the inflow to the outflow of the plant. Non-removal of ammonia nitrogen in the Icaraí STP was expected since the plant consists only of primary treatment with addition of coagulants.

The removal of the COD values in Icaraí STP was approximately 56%. In relation to total suspended solids, the removal was 67%. These removals are as expected for an STP operating with chemically-assisted primary treatment, according to Jordão & Pessôa (2005). It may be inferred that, in the monitoring period, the introduction of leachate in the treatment process did not impair its performance in terms of COD and SST removals.

The average value of ammonia nitrogen at the STP outflow, 33 mg/L, would not conform to the limit set by the technical standard NT-202 of Rio de Janeiro State Environment Institute (FEEMA, 1986), of 5mg/L, if the treatment ended in the Icaraí STP. Only in two of the twenty-nine samplings performed did the ammonia nitrogen values conform to the limits set by this law. However, the effluent from Icaraí STP still follows for treatment in a sea outfall.

Physicochemical monitoring showed that, in the period of analysis, the introduction of leachate in the sewage treatment did not cause interferences in the treatment processes. However the more commonly adopted effluent treatment techniques do not always guarantee a toxicity-free effluent (Rutherford *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2004). In order to prevent effluent discharge causing acute or chronic toxic effects to the aquatic biota and human health, its control must not to be restricted to physicochemical pollution-control parameters. Ecotoxicological tests are important tool for a more complete control of the sources of water pollution.

For the analysis of the ecotoxicological tests, the toxicity factors were determined for the organisms *Danio rerio* and *Daphnia similis*. Toxicity factors correspond to less dilution of the sample (1:1, 1:2, 1:4 etc) in which death or immobility did not occur in more than 10% of the organisms (LOEC – Lowest Observed Effect Concentration). Lethal concentrations were also determined at 50% of the organisms in the tests (LC50), representing the necessary concentration of the effluent tested to cause death in 50% of the test-organisms. Figure 1 shows the graphic

distribution (Box-plot) of the LC50 values in the tests with *Danio rerio* and Figure 2 in the tests with *Daphnia similis*. Table 2 shows the range between the minimum and maximum values of toxicity factors from tests for the samples.

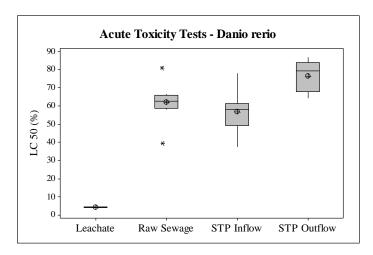


Figure 1 - Graphic distribution of LC50 values for acute toxicity tests with *D. rerio* - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP.

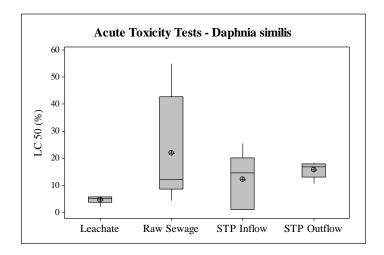


Figure 2 - Graphic distribution of LC50 values for acute toxicity tests with *D. similis* - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP.

Table 2 - Range of toxicity factors values for acute toxicity tests with *D. rerio* and *D. similis* - Morro do Céu landfill leachate, raw sewage, inflow and outflow of Icaraí STP.

Comple	Toxicity Factors (Range)					
Sample	Danio rerio Tests	Daphnia similis Tests				
Leachate	32 - 64	32 – 64				
Raw sewage	2 - 4	4 - 32				
STP inflow	2 - 4	8 - 16				
STP outflow	1.3 - 2	8 - 16				

The tests performed with *Danio rerio* resulted in a toxicity factor varying between 2 and 4 toxicity units (TU) for samples collected at the STP inflow and varying between 1.3 and 2 TU for samples from the plant outflow. The landfill leachate had a toxicity factor varying between 32 and 64 TU and raw sewage contributing to the plant had between 2 and 4 TU for tests using the same type of fish. All results of the eleven tests on *Danio rerio* with samples collected at the plant outflow comply with the effluent toxicity limit established in the prevailing Rio de Janeiro legislation, to the value of 8 TU (FEEMA, 1990). In accordance with the local legislation on toxicity control, leachate cannot be discarded into the environment without treatment, due to this high toxicity.

In the tests on *Daphnia similis*, the toxicity factor for the STP inflow and outflow varied between 8 and 16 TU; for raw sewage between 4 and 32 TU, and for leachate between 32 and 64 TU. There are no Brazilian regulations that set toxicity limits for effluents in tests using *Daphnia similis*. Administrative Rule n°. 017 of Santa Catarina State Environment Foundation (FATMA, 2002) sets a maximum limit of toxicity of 1 TU for *Daphnia magna* for effluents from domestic sewage treatment plants. Considering the similarity between these microcrustaceans, the Icaraí STP outflow would fail to conform to the limit set by the FATMA regulation, if the treatment ended in the STP.

The results of the statistical analyses of the LC50 toxicity data for fish and microcrustaceans are given in Table 3. The results indicated that for tests with *Danio rerio*, the average values of the sample data of the STP inflow (LC50 \approx 57%) and outflow (LC50 \approx 76%) are statistically different, with a confidence interval of 95%. The comparison between the sample data of raw sewage (LC50 \approx 62%) and STP inflow showed that there is no statistical evidence that the average values of the sample data of toxicity for these samples are different, with a confidence interval of 95%. Observing the distribution of LC50 values in the tests, shown in Figure 1, and the results of the statistical analysis, it is possible to conclude that leachate (LC50 \approx 4%) has much higher toxicity for fish than raw sewage. Nevertheless, the leachate-sewage mixture does not increase the toxicity in the samples collected in the STP inflow. The results indicate that, after treatment, the plant outflow has a reduced toxicity for fish in relation to its inflow.

The statistical analysis of the LC50 toxicity data for *Daphnia similis* in the STP inflow (LC50≈12%) and outflow (LC50≈16%) showed that there is no statistical

evidence that the average values of the sample data of toxicity for these samples are different, with a confidence interval of 95%. Statistical comparison between the sample data of toxicity in raw sewage (LC50≈22%) and in the STP inflow shows evidence that they are not different. In the case of sample data of toxicity for *Daphnia similis* in leachate (LC50≈5%) and raw sewage, the results of the statistical test showed that the averages are different. Based on the distribution of LC50 values in the tests, shown in Figure 2, and the results of the statistical analyses, it is possible to infer that leachate is more toxic for the microcrustaceans examined than raw sewage, but does not cause a significant increase in toxicity in the samples collected at the plant inflow, and that there is no significant reduction in toxicity for this organism in the treatment used in the STP.

Table 3 - Results of the statistical analysis applied to acute ecotoxicity data (LC50) with *D. rerio* and *D. similis* of inflowing samples and effluent to Icaraí STP.

Sample	Normal Distribution ¹	Compared Sample Data	Hypothesis Test ²	P Value ³			
Danio rerio							
Inflow	Yes	Inflow X	T Test	0.000			
Outflow	Yes	Outflow	1 Test				
Raw sewage	Yes	Inflow X Raw sewage	T Test	0.327			
Leachate	Yes	Leachate X Raw sewage	T Test	0.000			
Daphnia similis							
Inflow	Yes	Inflow X	T Test	0.397			
Outflow	Yes	Outflow					
Raw	No	Inflow X Raw	Mann- Whitney Test	0.4047			
sewage Leachate	Yes	sewage Raw sewage X Leachate	Mann- Whitney Test	0.0217			

Note: 1 Obtained by normality testing: Anderson-Darling, Ryan-Joiner and Kolmogorov-Smirnov. 2 Hypothesis tests used to compare two samples: T Test average testing (parametric) and Mann-Whitney Test (non parametric), both with a confidence level of 95%. 3 P value < 0.05 (95% significance): the null hypothesis is rejected (that the averages of the sample data are equal); P value > 0.05: there is no statistical evidence to say that the averages of the sample data are different.

Statistical analysis of correlation between the LC50 and COD values, LC50 and ammonia nitrogen values and LC50 and chlorides values, to the leachate, the raw sewage, the STP inflow and outflow were done. These tests were carried out to verify if the variability of toxicity could be explained by the variability of pollutants included in the parameters indicated.

All coefficients of correlation found indicated very week (0.00 < r < 0.19) and weak (0.20 < r < 0.39) correlations except for LC50 to *Daphnia similis* and ammonia nitrogen at the STP inflow, where a strong correlation was found (r = 0.79).

The regular monitoring of leachate co-treatment from Morro do Céu landfill with domestic sewage in Icaraí STP allows to conclude that although the leachate is much more toxic to the organisms tested than domestic sewage there is no increase in toxicity due to the addiction of leachate at the STP inflow compared to raw sewage. The co-treatment, where the contribution of the leachate flow did not exceed 1.5% of the total inflow, also did not cause significant interferences in the Icaraí STP treatment processes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank FINEP, Caixa Econômica Federal and CNPq for the financial support, and the CLIN and Águas de Niterói for the data provided and operating support. This study was developed within the scope of a research project that is part of the Basic Sanitation Research Program (PROSAB).

REFERENCES

ABNT (2003) Technical Standard NBR 12713 - Aquatic Ecotoxicology - Acute toxicity - test method with *Daphnia spp* (in Portuguese). Associação Brasileira de Normas Técnicas, Rio de Janeiro, Brazil.

APHA, AWWA, WPCF (2005) Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. APHA, AWWA, WPCF, New York.

CETESB (1990) Technical Standard NT / L5.019 - I - Acute toxicity test with fish. Part I - static system (in Portuguese). Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, São Paulo, Brazil.

Diamadopoulos E *et al.* (1997) Combined Treatment of Landfill Leachate and Domestic Sewage in a Sequencing Batch Reactor. Water Sci. Technol. 36: 61-68.

Ehrig HJ (1998) Co-treatment in Domestic Sewage Facilities. In: Proceedings of International Training Seminar: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate. CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, Cagliari, Italy.

FATMA (2002) Ordinance n°17 - Establishes acute toxicity maximum limits for effluent of different origins (in Portuguese). Florianópolis, Brazil.

FEEMA (1986) Technical Standard NT-202.R-10 Criteria and standards for effluents disposal (in Portuguese). Rio de Janeiro, Brazil.

FEEMA (1990) Technical Standard NT-213 Criteria and standards for industrial wastewater toxicity control (in Portuguese). Rio de Janeiro, Brazil.

Henry JG (1985) New Developments in Landfill Leachate Treatment. In: Proc. New Directions and Research in Waste Treatment and Residuals Management, Univ. of Brit. Columbia, v. 1, p. 139 apud KELLY HG (1987) Pilot Testing for Combined Treatment of Leachate from a Domestic Waste Landfill Site. J. Water Pollut. Control Fed. 59: 254-261.

Jordão EP, Pessôa CA (2005) Domestic Wastewater Treatment (in Portuguese). ABES, Rio de Janeiro, Brazil.

Marttinen SK, Kettunen RH, Rintala JA (2003) Occurrence and Removal of Organic Pollutants in Sewages and Landfill Leachates. The Sci. of the Total Environ. 301: 1-12.

McBean EA *et al* (1995) Solid Waste Landfill Engineering and Design. Prentice Hall, New Jersey.

Rutherford LA, Matthews SL, Doe KG, Julien GRL (2000) Aquatic Toxicity and Environmental Impact of Leachate Discharges from a Municipal Landfill. Water Qual. Res. J. Canada 35: 39–57.

Silva AC, Dezotti M, Sant'Anna Jr GL (2004) Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. Chemosphere 55: 207–214.

5.3. Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia

Artigo formatado para ser submetido a periódico científico.

Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia

Assessment of Impacts of Urban Solid Waste Landfill Leachate and Sewage Combined Treatment on Tilapia Fish

Camille Ferreira Mannarino, Josino Costa Moreira, João Alberto Ferreira e Ana Rosa Linde Arias

RESUMO

Foi monitorado o tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico em uma estação de tratamento em escala piloto que operou por processo de lodos ativados. Biomarcadores de toxicidade sub-letal, avaliados em peixes Tilápia, são capazes de indicar a possibilidade de danos aos organismos devido à interação com poluentes. A concentração de Metalotioneínas não indicou presença de metais maior nos peixes expostos do que nos controles. A atividade da enzima Acetilcolinesterase foi inibida em apenas um dos grupos expostos, indicando possível presença de agrotóxicos organofosforados e/ou carbamatos no efluente tratado. Os HPA's utilizados como biomarcadores (Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno) indicaram que os peixes expostos tiveram maior absorção de HPA's do que os peixes controles, sinalizando a provável presença desses compostos em ao menos um dos afluentes ao tratamento combinado. As frequências de Micronúcleos e outras anormalidade nucleares eritrocitárias também apontam para maiores danos genotóxicos em células de organismos expostos do que nos controles.

ABSTRACT

Landfill leachate and domestic sewage combined treatment was monitored in a treatment plant that operated on a pilot scale by activated sludge process. Biomarkers of sub-lethal toxicity, measured in tilapia fish, are able to indicate the possibility of damage to organisms due to interaction with pollutants. The concentration of Metallothioneins did not indicate the presence of metals higher in fish exposed than in controls. Acetylcholinesterase enzyme activity was inhibited in only one of the exposed group, indicating the possible presence of organophosphate and/or carbamates pesticides in treated effluent. The PAH's used as biomarkers (Naphthalene, Pyrene, Benzo(a)pyrene and 1-Hydroxypyrene) indicated that exposed fishes had a greater absorption of PAH's than controls fishes, indicating the likely presence of these compounds in at least one of the inflows to the combined treatment. Frequencies of Micronuclei and other nuclear erythrocyte abnormalities also indicate greater genotoxic damage in cells of organisms exposed than in controls.

PALAVRAS-CHAVE

Tratamento de Lixiviado, Ecotoxicidade, Biomarcadores, peixes Tilápia.

KEYWORDS

Leachate Treatment, Ecotoxicity, Biomarkers, Tilapia fish.

INTRODUÇÃO

A geração de esgotos e resíduos sólidos é inerente às sociedades organizadas em áreas urbanas. Tais esgotos e resíduos sólidos, bem como seus subprodutos, precisam ser tratados para minimizar os impactos de seus descartes no meio ambiente. Quanto maior a cidade, tende a ser mais complexo e mais oneroso o tratamento desses resíduos das atividades humanas.

Esgotos domésticos são constituídos por água, em percentuais superiores a 99% da composição total, contendo geralmente baixas concentrações de material orgânico e inorgânico, dissolvido ou em suspensão, em função dos usos aos quais a água foi submetida. Dentre as principais substâncias orgânicas comumente encontradas nos esgotos, podem ser citados carboidratos, lignina, gorduras, sabões, detergentes, proteínas e seus produtos de decomposição, além de várias outras substâncias naturais

ou sintéticas, inclusive resíduos de medicamentos (Jordão & Pessôa, 2005; Von Sperling, 2005).

Organismos patogênicos, como vírus (enterovirus etc), bactérias (salmonellas, coliformies, shigella, vibrio cholerae etc), protozoários (amebas etc) e helmintos (ascaris, schistosoma, taenia tricocefalus etc) podem estar presentes nos esgotos domésticos e causar transtornos sob o ponto de vista da saúde pública.

O lixiviado gerado em aterros sanitários é decorrente da percolação, através das camadas do aterro, de líquidos de origem externa: águas de chuva, escoamento superficial, águas subterrâneas e fontes, da água gerada no processo de decomposição dos resíduos orgânicos e da umidade inicial dos resíduos. No processo de percolação de líquidos através das camadas de resíduos no aterro, ocorre a solubilização de substâncias orgânicas e inorgânicas, formando um novo líquido de composição bastante variável (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

O potencial poluidor do lixiviado está ligado principalmente aos altos valores de carga orgânica que apresenta, prejudicando a fauna e a flora nesses meios. Pode ainda haver a incorporação de substâncias dissolvidas ou em suspensão cujas características tóxicas apresentem risco de contaminação para os ecossistemas locais e à saúde humana (Tchobanoglous *et al.*, 1993).

O tratamento combinado de lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos em estações de tratamento de esgotos (ETE's) é utilizado em vários países como forma de reduzir os custos de operação dos aterros. O custo de tratamento do lixiviado pode atingir valores bastante elevados, por requerer conjuntos usualmente complexos de operações de tratamento e por continuar a se fazer necessário mesmo após décadas de encerramento do aterro (Cossu, 1998; Diamadopoulos *et al.*, 1997; Ebert, 1999; Ehrig, 1998; Marttinen *et al.*, 2003).

Se, sob o aspecto da operação dos aterros, o tratamento combinado pode ser uma solução para as dificuldades encontradas no tratamento do lixiviado isoladamente, sob o aspecto da operação das estações de tratamento de esgotos, questiona-se sobre as interferências que o lixiviado pode causar nos processos de tratamento. Tais questionamentos têm origem nas características diferenciadas que o lixiviado apresenta em relação ao esgoto doméstico, tais como elevadas concentrações de compostos orgânicos recalcitrantes, de nitrogênio amoniacal e de salinidade.

As técnicas de tratamento de efluentes mais comumente adotadas nem sempre asseguram que o efluente é desprovido de toxicidade. A fim de evitar que os efluentes descartados nos corpos hídricos causem efeitos tóxicos, de natureza aguda ou

crônica, à biota aquática e à saúde humana, é necessário que o seu controle não seja restrito aos parâmetros físico-químicos de controle de poluição (Rutherford *et al.*, 2000; Silva, 2002; Sisinno, 2002).

A realização de bioensaios mostra-se ferramenta importante para o controle mais abrangente das fontes de poluição das águas. Os bioensaios buscam identificar interações entre os poluentes presentes em efluentes e organismos vivos por meio do uso de biomarcadores (Arias *et al.*, 2008 A; Arias *et al.*, 2008 B). Os biomarcadores são capazes de detectar de forma precoce efeitos possíveis do efluente sobre os organismos vivos. Observando alterações de funções vitais ou de composição química nos organismos, é possível se conhecer efeitos da exposição a poluentes antes que danos letais possam ocorrer (Arias *et al.*, 2005).

O presente trabalho tem como objetivo apresentar a avaliação de impactos do efluente do tratamento combinado do lixiviado de um aterro de resíduos sólidos urbanos em uma estação de tratamento de esgotos em escala piloto em peixes do tipo Tilápia, utilizando como ferramenta biomarcadores indicativos de efeitos tóxicos subletais.

MATERIAIS E MÉTODOS

A fim de possibilitar a avaliação do tratamento combinado de lixiviado e esgoto por meio de biomarcadores, peixes conhecidos como Tilápia foram expostos ao efluente tratado de uma estação de tratamento combinado de lixiviado e esgoto em escala piloto.

A escolha de Tilápias como organismos-teste para o estudo deveu-se a um conjunto de fatores, quais sejam: são organismos existentes em grande parte dos corpos hídricos de água doce no território nacional, embora sejam exóticos, originários da África; apresentam grande importância comercial pois têm lugar expressivo entre os peixes de água doce cultivados para alimentação humana; são organismos com boa capacidade de adaptação a variações de qualidade de água, quando comparados com outros peixes cultivados – apresentam tolerância a baixos níveis de oxigênio dissolvido e a altas concentrações de amônia e são capazes de se desenvolver em ampla faixa de acidez e alcalinidade na água (Santos *et al.*, 2009; Soares, 2003).

Estação de Tratamento Combinado em Escala Piloto

A estação de tratamento piloto foi implantada na área da Estação de Tratamento de Esgotos (ETE) Icaraí, localizada na cidade de Niterói (RJ). A estação

piloto operou por processo de lodos ativados e foi projetada para tratar lixiviado de forma conjunta com esgoto doméstico em regime de aeração prolongada.

A estação de tratamento por lodos ativados em escala piloto era composta de reator aeróbio, operado com volume de 1150L, decantador e sistema de reciclo de lodo. A estação piloto operou com vazão média de 60L/h e tempo de detenção hidráulica variando entre 17h e 19h, com recirculação do lodo biológico.

A alimentação da estação de tratamento piloto foi feita com afluente captado dentro da caixa de areia da ETE Icaraí, contendo uma mistura de esgoto doméstico com lixiviado em proporções que variaram entre 0,5% a 1%. O lixiviado afluente à ETE Icaraí é proveniente do Aterro do Morro do Céu, também localizado em Niterói.

Bioensaios

Foi construído um aquário destinado a receber o efluente tratado da estação de tratamento combinado em escala piloto e abrigar os peixes a serem avaliados. O aquário foi implantado em uma caixa d'água de 1000L, fabricada em PEAD.

Os peixes inseridos no aquário não receberam qualquer tipo de ração ou outro alimento além do efluente tratado da estação de tratamento piloto. Foram utilizados peixes machos com peso em torno de 500g, adquiridos vivos em criadouro, no sentido de tentar garantir a sua não contaminação inicial. Quatro compressores de ar de aquário realizaram a aeração na caixa d'água.

Foram realizados quatro experimentos de exposição dos peixes no aquário ao efluente tratado da estação piloto. O primeiro experimento teve 14 peixes expostos e duração de 7 dias. O segundo experimento teve 6 peixes expostos e duração de 7 dias. O terceiro e quarto experimentos tiveram 8 peixes expostos e duração de 14 dias. Nos experimentos descritos, a proporção da mistura de lixiviado na alimentação da estação piloto manteve-se entre 0,5% e 1%. Todos os experimentos foram realizados entre outubro e dezembro de 2008.

Os peixes controles, não submetidos à exposição e utilizados para comparação, totalizaram 25 unidades. Esses peixes eram levados ao laboratório para coleta de amostras biológicas no mesmo dia da sua coleta no fornecedor. Não foi possível realizar ensaios controle com esgoto puro devido ao fato de o esgoto já chegar à ETE Icaraí misturado com lixiviado.

Os biomarcadores avaliados abrangem níveis de organização individual, molecular e celular. Em nível individual, foram contabilizados o tamanho e o peso dos peixes e calculado o Fator de Condição. Em nível molecular, foram utilizados a

concentração de Metalotioneínas, como biomarcador de exposição a metais pesados, a atividade da enzima Acetilcolinesterase, indicador de efeitos neurotóxicos decorrentes da exposição a agrotóxicos organofosforados e carbamatos, e a concentração de metabólitos de HPA's (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) na bile, indicador de exposição à HPA's. Em nível celular, foi realizada a contagem de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares, como indicativos de danos ao material genético das células, representando efeitos genotóxicos aos organismos.

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia do Centro de Estudos em Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana da ENSP/FIOCRUZ.

Fator de Condição (FC)

O Fator de Condição foi calculado por uma relação entre a média dos pesos e a média dos comprimentos dos peixes de determinado grupo amostral, por meio da fórmula $FC = peso \ x \ 100 \ / \ tamanho^3$. Os pesos dos peixes são indicados em gramas e os comprimentos em centímetros (Arias *et al.*, 2005; Freire *et al.*, 2008).

Metalotioneínas (MT's)

As avaliações de concentração de metalotioneínas foram realizadas em tecidos de fígado de peixes, seguindo o Método de Brdicka (Raspor, 2001). As amostras foram homogeneizados em solução Tampão Tris-Sacarose (Tris – 20mM; Sacarose – 0,5M, pH 8,6), na razão 3:1 (volume de tampão:peso de fígado).

Para a determinação da MT, foram colocados 10 mL de Eletrólito (Cloreto de Hexamina Cobalto – 6x10⁻⁴M, Cloreto de Amônio – 1M, Hidróxido de Amônio – 1M, pH 9,5) em cubetas, onde foram adicionados 100μL de amostra. A quantificação da MT foi realizada com auxílio de um Polarógrafo.

Acetilcolinesterase (AChE)

As avaliações de inibição da enzima acetilcolinesterase foram realizadas em tecidos de músculo de peixes, de acordo com Oliveira-Silva *et al.* (2000) e Ellman *et al.* (1961). Os músculos foram homogeneizados em solução Tampão Fosfato de Sódio (0,12M, pH 7,6) na razão 1:6 (peso de músculo:volume de tampão).

Para a determinação da atividade da AChE, foram preparados tubos com 2ml de tampão Fosfato de Sódio (0,12M, pH 7,6) e 500µl de DTNB (2mM, preparado em tampão fosfato de sódio 0,12M, pH 7,6), onde foram adicionados 500µl de Acetiltiocolina e 50µL de amostra. A leitura foi feita em espectofotômetro.

Foi determinada a atividade específica da AChE, dada pela razão entre os valores de atividade enzimática de AChE e a respectiva concentração de proteína na amostra, expressa em µmoles AChE/min/mg de proteína.

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's)

Foram analisados metabólitos dos HPA's: Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno. As avaliações das concentrações de metabólitos de HPA's foram realizadas em bile de peixes, de acordo com os procedimentos descritos em Freire (2008).

Para realização da determinação dos metabólitos biliares as amostras foram sonicadas por 15 minutos e, em seguida, diluídas em água/etanol em proporção de 50:50 (volume:volume).

As amostras foram analisadas espectrofluorímetro. A presença dos metabolitos do Naftaleno, Pireno e Benzo(a)pireno foi analisada por método de Fluorescência de Comprimento de Onda Fixo – FF e dos metabolitos do 1-Hidroxipireno, por método de Espectrometria de Fluorescência Sincronizada - SFS.

Determinaram-se as proteínas biliares totais e as suas concentrações, a fim de proceder à normalização pelo status alimentar.

Micronúcleos (MN)

O método para avaliação de micronúcleos consiste na contagem de células que contenham um ou mais micronúcleos citoplasmáticos. Os procedimentos de análise seguiram a descrição de Sánchez-Galán *et al.*. (1998). As avaliações das contagens de micronúcleos foram realizadas em eritrócitos, coletados junto às brânquias dos peixes.

As lâminas foram sequencialmente coradas com corante de May-Grünwald por 2 minutos, corante de May-Grünwald mais água destilada em proporção de 1:1 por 3 minutos e corante Giemsa mais água destilada em proporção de 1:6 por 10 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada e secas com Eukkit.

A frequência relativa de micronúcleos foi avaliada em microscópio ótico, com capacidade de ampliação de 1000 vezes. Foram contados em média 1000 eritrócitos mononucleados por lâmina como referência.

Além de micronúcleos, foi realizada a contagem de outras anormalidades nucleares nas células analisadas, as quais foram agrupadas, para avaliação dos resultados, como "anormalidades nucleares eritrocitárias".

Análises Estatísticas

Verificou-se a normalidade da distribuição dos dados amostrais para cada conjunto de dados avaliado, utilizando-se os testes Anderson-Darling, Ryan-Joiner e Kolmogorov-Smirnov.

De acordo com a normalidade ou não da distribuição dos conjuntos de dados amostrais dos grupos comparados, foram usados os testes de análise de variância One Way ANOVA (paramétrico) e *Kruskal-Wallis Test* (não paramétrico). Na sequência, foram usados testes de comparações múltiplas (Post hoc Tests) *Tukey's Test* (paramétrico) e *Mann-Whitney Test* (não paramétrico). Todos os testes foram realizados no programa Minitab 15, com nível de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização do afluente e do efluente da estação de tratamento combinado em escala piloto, durante o período de realização dos bioensaios, é apresentada na Tabela 1. Percebe-se que a adição de lixiviado ao afluente da estação de tratamento não implicou em concentrações médias de matéria orgânica maiores do que o previsto nas faixas típicas para esgoto doméstico, entre 250 e 400mg/L de DBO e 450 e 800mg/L de DQO. A concentração de nitrogênio amoniacal no afluente foi aumentada, deslocando o valor médio para um pouco acima da faixa esperada para esgoto doméstico puro, 20mg/L a 35mg/L (Von Sperling, 2005).

Tabela 1 - Caracterização do afluente e do efluente da estação de tratamento piloto – valores médios.

Parâmetros	Afluente à ETE Piloto (esgoto + lixiviado)	Efluente da ETE Piloto			
pН	7,5	7,5			
DQO (mg/L)	379	80			
DBO (mg/L)	243	43			
SST (mg/L)	208	70			
$N-NH_3$ (mg/L)	36	3,2			

Quatro experimentos foram realizados com Tilápias expostas ao efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico da estação piloto de lodos ativados. Na primeira exposição, dos 14 peixes submetidos à exposição ao efluente tratado, 5 peixes sobreviveram pelo tempo de 7 dias. Na segunda exposição, todos os 6 peixes expostos sobreviveram por 7 dias. No terceiro e quarto experimentos, 4 dos 8

peixes expostos sobreviveram por 14 dias de exposição. Um resumo das condições de operação dos experimentos realizados é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Resumo das condições de operação dos experimentos de bioensaios.

Experimento	% de Lixiviado no Afluente ao Tratamento	Duração da Exposição (dias)	Peixes Expostos	Peixes Sobreviventes	
Exposição I	0,5 a 1%	7	14	5	
Exposição II	0,5 a 1%	7	6	6	
Exposição III	0,5 a 1%	14	8	4	
Exposição IV	0,5 a 1%	14	8	4	

Os peixes que sobreviveram às exposições e os controles tiveram amostras biológicas coletadas de sangue, bile, fígado e músculo para avaliação dos biomarcadores selecionados. Os peixes que morreram durante as exposições foram descartados, sem serem considerados nesse estudo.

O número significativo de peixes mortos nos experimentos realizados pode estar associado ao estresse sofrido pelos peixes durante o transporte entre o criadouro e o local de exposição. Outro fator possível de ter contribuído para as mortes é a disputa por espaço pelos peixes confinados no aquário. Como o foco do trabalho era a avaliação dos peixes vivos, não foram feitas análises no sentido de identificar sinais que pudessem indicar as causas das mortes dos peixes.

Durante todas as exposições realizadas, o pH no aquário manteve-se entre 6,3 e 7,0 e a concentração de oxigênio dissolvido, variando entre 4mg/L e 6mg/L. A temperatura da água no aquário variou entre 22°C e 24°C.

Dados obtidos das exposições que operaram com a mesma faixa percentual de lixiviado na mistura de alimentação e mesmo tempo de exposição foram agrupados para avaliação. Dessa forma, os resultados foram reunidos em três grupos: Controle; Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado.

Os resultados do monitoramento inicial dos organismos-teste, relativo ao peso, comprimento e Fator de Condição, para os três grupos avaliados, são apresentados na Tabela 3.

Análises de variância permitiram inferir que os pesos e comprimentos médios não apresentam diferenças estatísticas entre grupos. O Fator de Condição apresentou diferença estatística apenas para o grupo Exposto 14 dias - 0,5 a 1%

lixiviado, em relação aos demais. Esse grupo apresentou menor valor médio de Fator de Condição, o que pode estar associado ao estresse causado pelo efluente do tratamento combinado e também à deficiência de alimento em um período mais longo de exposição.

Tabela 3 – Resultados para o monitoramento de peso, comprimento e fator de condição para os grupos avaliados.

Grupo	N	Peso (g)		Comprimento (cm)		Fator de Condição (g/cm³)	
		Média	Desvio	Média	Desvio	Média	Desvio
Controle		457,4	62,0	28,8	1,2	1,91	0,22
Exposto 7 dias; 0,5 a 1% lixiv.		431,8	77,3	27,6	1,5	2,03	0,18
Exposto 14 dias; 0,5 a 1% lixiv.		414,7	70,3	29,6	2,5	1,62	0,26

OBS. N = número de indivíduos avaliados.

Avaliações de concentração de Metalotioneínas foram realizadas em tecidos de fígado de peixes e tiveram seus resultados expressos conforme representação gráfica (Box-plot) apresentada na Figura 1. Testes de análise de variância permitem inferir que não há evidência estatística para afirmar que as médias amostrais dos quatro grupos avaliados são diferentes. Os testes indicam que a concentração média de Metalotioneínas por peso de fígado é estatisticamente igual nos grupos Controle; Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado; Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado.

Mantida a concentração dessas proteínas no fígado dos peixes controle e expostos, a concentrações de lixiviados diferentes, pode-se concluir que o lixiviado e o esgoto não contribuíram com concentrações significativas de metais a ponto de aumentar a produção de Metalotioneínas nos organismos expostos.

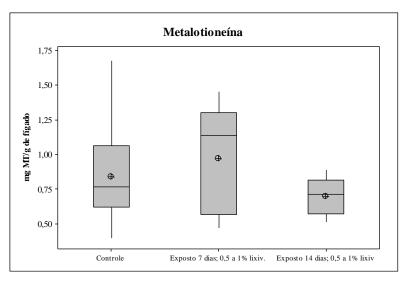


Figura 1 — Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Metalotioneínas para os grupos avaliados.

A distribuição dos resultados da atividade da enzima Acetilcolinesterase em tecidos de músculo de Tilápias para os três grupos avaliados está representada na Figura 2. Os valores encontrados para as médias amostrais dos grupos Controle e Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado não apresentam evidência estatística de serem diferentes.

O único grupo que apresentou média amostral significativamente diferente foi o Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado, onde o valor da atividade da enzima Acetilcolinesterase foi menor do que nos demais grupos. As justificativas para o grupo exposto que combina menor tempo de exposição apresentar menor atividade da enzima devem passar pela existência de maiores concentrações dos agentes inibidores de Acetilcolinesterase no efluente do tratamento combinado. Maiores concentrações de agrotóxicos organofosforados e/ou carbamatos no efluente tratado podem estar associadas à variação na composição do lixiviado ou do esgoto durante o período de exposição, induzida por algum descarte temporário desses poluentes na rede de esgotos ou no aterro de resíduos.

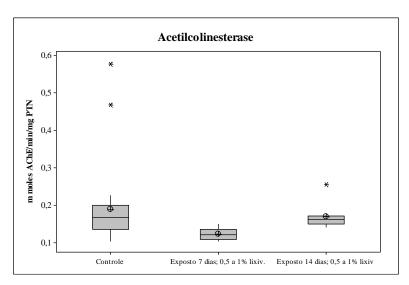


Figura 2 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de atividade de Acetilcolinesterase para os grupos avaliados.

Metabólitos de HPA's, expressos em equivalentes dos HPA's de origem em relação às proteínas biliares totais, foram analisados em bile de peixes. A distribuição dos resultados de concentração para Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno pode ser visualizada nas Figuras 3 a 6.

Todos os HPA's utilizados como biomarcadores seguiram o mesmo padrão de comportamento em relação às diferenças encontradas entre os grupos. A comparação entre as médias amostrais do grupo controle e os diferentes grupos expostos para cada biomarcador permite inferir que há evidência estatística de que as médias são diferentes. É possível afirmar, com o auxílio dos gráficos apresentados, que as concentrações médias de HPA's na bile dos peixes controles são menores do que nos peixes expostos.

Ainda por meio de comparações estatísticas, há evidências para afirmar que as médias amostrais das concentrações de HPA's na bile dos peixes expostos são iguais, para cada biomarcador, independentemente do tempo de exposição, nas condições do estudo.

As análises indicam que os peixes expostos tiveram maior absorção de HPA's do que os peixes controles, sinalizando a provável presença desses compostos em ao menos um dos afluentes ao tratamento combinado.

A presença de HPA's em resíduos sólidos e lixiviados de aterros já havia sido constatada por Sisinno (2002). No lixiviado do aterro do Morro do Céu, que contribui para a estação de tratamento combinado em avaliação, Sisinno (2002) identificou a presença de 17 HPA's, incluindo Pireno e Benzo(a)pireno. A origem dos HPA's nos lixiviados pode estar relacionada com a presença desses poluentes nos

resíduos descartados nos aterros, com a queima de resíduos na área do aterro e com a deposição ou arraste de HPA's presentes na atmosfera (Sisinno, 2002).

Em aterros controlados e em lixões, a presença de HPA's pode ser significativa visto que não há restrições aos resíduos recebidos, sendo comum nesses locais a presença de resíduos industriais. Nesses locais, a queima de resíduos também é usual, liberando HPA's de origem pirogênica, como Pireno e Benzo(a)pireno. Em todos os locais de disposição final de resíduos, sobretudo aqueles localizados em áreas intensamente urbanizadas e/ou industrializadas, a deposição ou arraste de HPA's presentes na atmosfera se faz importante visto que normalmente possuem extensa área superficial.

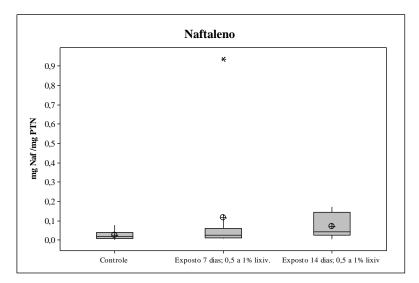


Figura 3 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Naftaleno para os grupos avaliados.

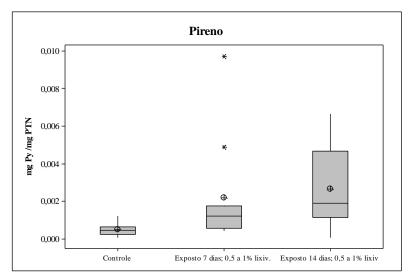


Figura 4 — Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Pireno para os grupos avaliados.

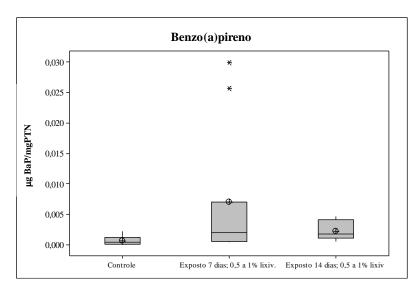


Figura 5 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Benzo(a)pireno para os grupos avaliados.

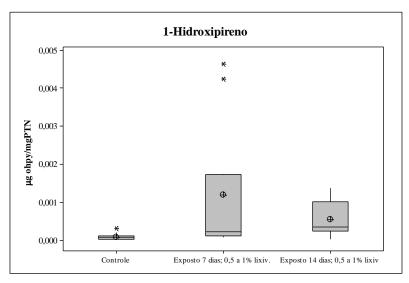


Figura 6 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de 1-Hidroxipireno para os grupos avaliados.

Danos ao material genético dos organismos-teste foram avaliados por meio da frequência de Micronúcleos e outras anormalidades nucleares formados nas células de sangue coletado junto à brânquia das Tilápias.

Na Figura 7, é apresentada a representação gráfica da distribuição dos resultados de freqüência de Micronúcleos para os grupos avaliados. Por meio de análise estatística e visualização do gráfico relativo a esse biomarcador, é possível inferir que a média amostral da frequência de Micronúcleos é menor nos peixes controles do que nos peixes expostos. Para os grupos Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado e Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado, as médias amostrais da frequência de Micronúcleos mostram-se estatisticamente iguais.

As respostas de frequências de outras Anormalidades Nucleares Eritrocitárias (excetuando-se Micronúcleos) também apontam para maiores danos genotóxicos em células de organismos expostos do que nos controles, como pode ser observado também na Figura 8. Nos grupos expostos, as médias de freqüência dessas anormalidades são estatisticamente iguais.

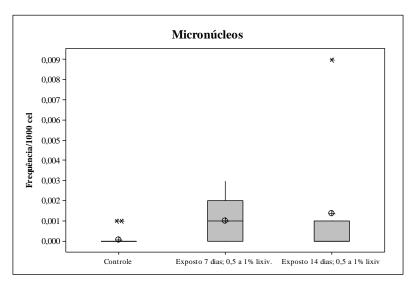


Figura 7 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de frequência de Micronúcleos para os grupos avaliados.

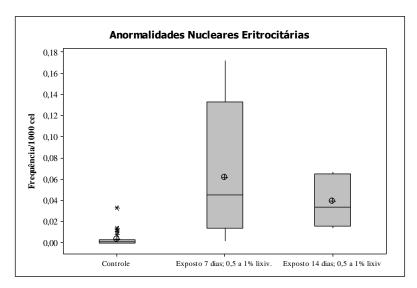


Figura 8 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de frequência de Anormalidades Nucleares Eritrocitárias (exceto Micronúcleos) para os grupos avaliados.

Maiores frequências de Micronúcleos e de outras Anormalidades Nucleares Eritrocitárias nos peixes expostos do que nos controles podem estar relacionadas a efeitos da exposição a HPA's. A avaliação dos HPA's nesse estudo indicou maiores concentrações desses compostos nos peixes expostos do que nos controles. Alguns dos HPA's identificados na bile dos peixes expostos são considerados genotóxicos pelo IARC - International Agency for Research on Cancer (2010): Benzo(a)pireno (carcinogênico para humanos) e Naftaleno (possível carcinogênico para humanos).

CONCLUSÕES

O tratamento de lixiviado de aterros de resíduo sólidos urbanos combinado com esgoto doméstico pode ser uma alternativa importante para a minimização dos impactos causados pelos locais de disposição final de resíduos. O lixiviado gerado nesses locais muitas vezes não recebe qualquer tratamento ou é submetido a tratamentos ineficientes em remoção de poluentes antes de ser descartado no ambiente.

O tratamento de lixiviado em estações de tratamento de esgotos apresenta vantagens operacionais para a gestão dos locais de destino final de resíduos pois possui baixo custo operacional se comparado a outros tratamentos aplicados a lixiviados, permite o tratamento desse efluente mesmo após o encerramento do aterro e possibilita, na maior parte dos casos, o atendimento à legislação de descarte de efluentes.

Entretanto, para que essa alternativa de tratamento seja considerada realmente adequada é preciso avaliar os impactos do efluente do tratamento combinado nos ecossistemas. Ensaios de ecotoxicidade sub-crônica e crônica permitem conhecer os impactos do efluente nos organismos após longos períodos de exposição, como ocorre no ambiente.

Para avaliação da ecotoxicidade sub-crônica, no estudo apresentado, foram avaliados nove biomarcadores em peixes do tipo Tilápia expostos ao efluente do tratamento combinado: Fator de Condição; nível de Metalotioneínas; atividade da enzima Acetilcolinesterase; concentração de metabólitos dos HPA's: Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno; contagem de Micronúcleos; contagem de outras anormalidades nucleares.

Por meio da avaliação dos biomarcadores foi possível inferir a presença de HPA's no efluente tratado, visto que esses compostos foram encontrados na bile dos peixes expostos em concentrações maiores do que nos peixes controles. Da mesma forma, a frequência de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares também foi maior nos peixes expostos, indicando maior genotoxicidade nesses organismos do que nos controles. Esses dois resultados podem estar interligados visto que alguns HPA's possuem capacidade de causar danos genotóxicos.

O uso de um conjunto de biomarcadores, com especificidades para identificação de danos associados a poluentes distintos, mostrou-se importante para minimizar possíveis erros de interpretação decorrentes do uso de apenas um indicador e para possibilitar uma avaliação mais ampla de danos sub-letais presentes em organismos expostos a fontes de poluição.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FINEP, à Caixa Econômica Federal e ao CNPq pelo apoio financeiro; à CLIN e à Águas de Niterói pelos dados fornecidos e suporte operacional; à equipe do Laboratório de Ecotoxicologia do CESTEH/ENSP/FIOCRUZ pela realização dos ensaios. Esse estudo foi desenvolvido no escopo de um projeto de pesquisa integrante do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico – PROSAB 5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; ALBUQUERQUE, C.; FREIRE, M. M.; MOREIRA, J. C. Biomarkers in an invasive fish species, Oreochromis niloticus, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Science of the Total Environment*, v. 399, p. 186-192, 2008 B.

ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; NOVO, L. A.; ALBUQUERQUE, C.; MOREIRA, J. C. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraiba do Sul. *Environmental Pollution*, v. 156, p. 974-979, 2008 A.

ARIAS, A. R. L.; INÁCIO, A. F.; NOVO, L. A.; VIANA, T. A. P.; ALBUQUERQUE, C. Utilização de Biomarcadores como Ferramenta de Monitoramento e Avaliação Ambiental: O Caso de Recursos Hídricos. *Mundo e Vida*, v.6, p. 34 – 41, 2005.

COSSU, R. Ingegnieria Ambientale, v. 11, p. 564, 1982 *apud* LEMA, J.M.; MENDEZ, R.; BLAZQUEZ, R. Characteristics of Landfill Leachates and Alternatives for Their Treatment: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.40, p.223-250, 1988.

DIAMADOPOULOS, E. *et al.* Combined Treatment of Landfill Leachate and Domestic Sewage in a Sequencing Batch Reactor. *Water Science & Technology*, v. 36, p. 61-68, 1997.

EBERT, R. Estudo de Regulamentos para Recebimento de Efluentes Não Domésticos no Sistema Público de Esgotos. In: Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.

EHRIG, H. J. Co-treatment in Domestic Sewage Facilities. In: Proceedings of International Training Seminar: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate, 1998, Venice, p. XI-1 a XI-10. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.

ELMANN, G. L.; COURTNEY, K.; ANDRES, JR A.; FEATHERSTONE, R. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. Biochemical Pharmacology, v.7, p. 89-95, 1961.

FREIRE, M.M. Determinação de Metabólitos de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Biles de Peixes como Biomarcador na Baía De Guanabara. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2008.

FREIRE, M.M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I.S.F., ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na Avaliação da Saúde Ambiental dos Ecossistemas Aquáticos. *Oecol. Bras.*, v. 12 (3), p. 347-354, 2008.

IARC - International Agency for Research on Cancer. Agents Classified by the *IARC Monographs*, Volumes 1–100. Disponível em: http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php (acesso em 26/06/2010).

JORDÃO, E.P; PESSÔA, C.A. Tratamento de Esgotos Domésticos. 4.ed., Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária – ABES, 2005.

MARTTINEN, S. K., KETTUNEN, R. H., RINTALA, J. A. Occurrence and Removal of Organic Pollutants in Sewages and Landfill Leachates. *The Science of the Total Environmental*, p. 1-12, v. 301, 2003.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; INÁCIO, A. F.; MEYER, A.; SARCINELLI, P. N.; FERREIRA, M. F.; CUNHA, J. C.; MOREIRA, J. C. Cholinesterase Activities Determination in Froozen Blood Samples: an Improvement to the Occupational Monitoring in Developing Countries. Hum. Exp. Toxicol., v.19, p. 173-177, 2000.

RASPOR, B. Elucidation of the Mechanism of the Brdička Reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 503, p. 159–162, 2001.

RUTHERFORD, L. A., MATTHEWS, S. L., DOE, K. G., JULIEN, G. R. L. Aquatic Toxicity and Environmental Impact of Leachate Discharges from a Municipal Landfill. *Water Qual. Res. J. Canada*, p. 39–57, v. 35, 2000.

SÁNCHEZ-GALÁN S, LINDE AR, IZQUIERDO JI, GARCÍA-VÁZQUEZ E. Micronuclei and fluctuating asymmetry in brown trout (Salmo trutta): complementary methods to biomonitor freshwater ecosystems. *Mutation Research*, v.412, p.219–25, (1998).

SANTOS, E. S.; NETO, M. F.; MOTA, S.; SANTOS, A. B.; AQUINO, M. D. Cultivo de Tilápia do Nilo em Esgoto Doméstico. *Revista DAE*, v. 180, p. 4-11, 2009.

SILVA, A. C. Tratamento do Percolado de Aterro Sanitário e Avaliação da Toxicidade do Efluente Bruto e Tratado. Dissertação de Mestrado. COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2002.

SISINNO, C. L. S. Destino dos Resíduos Sólidos Urbanos e Industriais no Estado do Rio de Janeiro: Avaliação da Toxicidade dos Resíduos e suas Implicações para o Ambiente e para a Saúde Humana. Tese de Doutorado. Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2002.

SOARES, C. Análise das Implicações Sociais, Econômicas e Ambientais Relacionadas ao Uso da Piscicultura - O Caso Fazenda Princesa do Sertão - Palhoça/Sc. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

TCHOBANOGLOUS, G.; THEISEN H., VIGIL S. A. Integrated Solid Waste Management, Engineering Principles and Management Issues. New York: McGraw-Hill, 1993.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias - Volume 1: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 3ª ed., 2005.

5.3.1. Considerações Sobre o Artigo "Avaliação de Impactos do Efluente do Tratamento Combinado de Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos e Esgoto Doméstico em Peixes do Tipo Tilápia"

Os resultados de monitoramento da operação da estação de tratamento piloto, destinada a tratar de forma combinada lixiviado e esgoto, mostraram que as remoções de DBO e DQO ficaram aquém das esperadas para processos de tratamento por lodos ativados com aeração prolongada destinados a tratar somente esgoto doméstico.

Observou-se perda de sólidos (microorganismos) no efluente da estação de tratamento, o que pode ter comprometido a remoção de poluentes. A perda de sólidos provavelmente ocorreu devido a problemas na sedimentabilidade do lodo biológico no decantador da estação piloto.

No estado do Rio de Janeiro, a legislação vigente não define especificamente padrões para tratamento de lixiviados de aterros sanitários. A Diretriz DZ-205.R-6 da

FEEMA – atual INEA - estabelece como concentração máxima de DQO em percolado de aterro industrial o valor 200mg/L (FEEMA, 2007). No caso do tratamento combinado, pressupõe-se que a presença do lixiviado não deverá interferir na qualidade esperada para o efluente da estação tratando apenas esgotos domésticos.

A Norma Técnica NT 202. R-10, que estabelece critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos no estado do Rio de Janeiro, define o limite de 5mg/L para descarte de nitrogênio amoniacal (FEEMA, 1986). O efluente tratado da estação piloto apresentou valor médio de nitrogênio amoniacal, 3,2mg/L, abaixo do permitido pela legislação estadual.

Em relação aos bioensaios, foram realizados cinco experimentos de exposição de peixes ao efluente tratado da estação piloto. Entretanto, apenas quatro experimentos foram apresentados no artigo, reunidos em dois grupos (Exposto 7 dias - 0,5 a 1% lixiviado e Exposto 14 dias - 0,5 a 1% lixiviado), além do grupo Controle. O quinto experimento teve 14 dias de tempo de exposição e proporção em volume de lixiviado variando de 2% a 2,5%, tendo sido adicionado lixiviado ao afluente captado na ETE Icaraí. Este experimento teve apenas quatro peixes sobreviventes analisados quanto aos biomarcadores, configurando um número amostral muito pequeno, o que pode acarretar em distorções na análise dos dados. Devido a limitações do projeto de pesquisa de onde o estudo era parte integrante, a configuração do quinto experimento não pôde ser repetida.

Os gráficos Box-plot das avaliações de concentração de Metalotioneínas; atividade da enzima Acetilcolinesterase; concentração de metabólitos dos HPA's: Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno, incluindo os resultados do experimento que teve 14 dias de tempo de exposição e proporção em volume de lixiviado variando de 2% a 2,5%, não apresentados no artigo, encontram-se na sequência de Figuras 5.1 a 5.6.

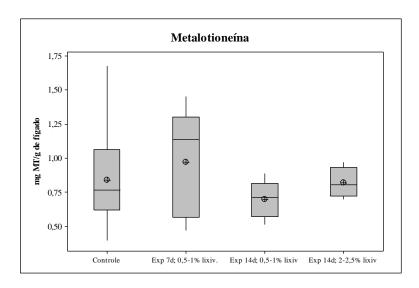


Figura 5.1 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Metalotioneínas para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

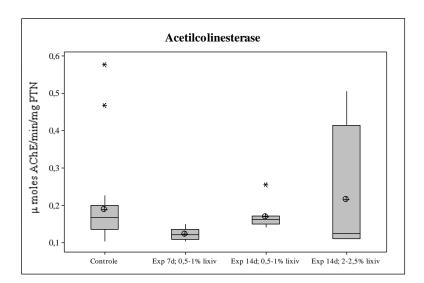


Figura 5.2 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de atividade de Acetilcolinesterase para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

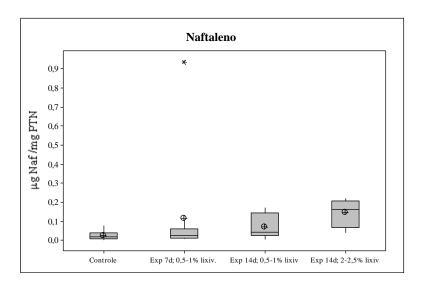


Figura 5.3 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Naftaleno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

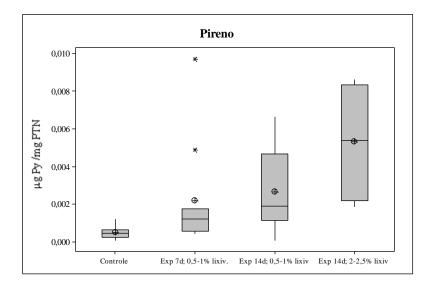


Figura 5.4 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Pireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

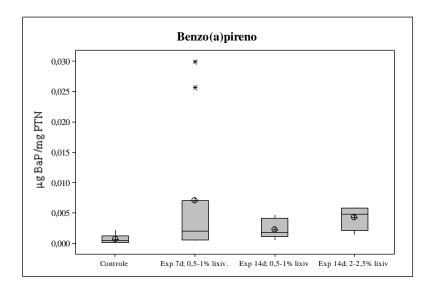


Figura 5.5 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de Benzo(a)pireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

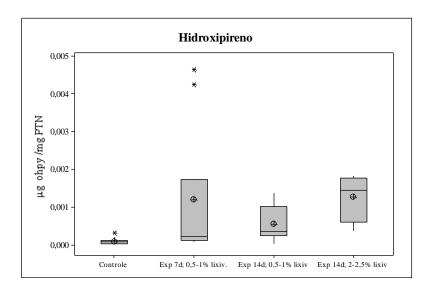


Figura 5.6 – Representação gráfica (Box-plot) da distribuição dos resultados de concentração de 1-Hidroxipireno para os cinco experimentos realizados e grupo Controle.

Devido ao número amostral reduzido para o experimento que teve 14 dias de tempo de exposição e proporção em volume de lixiviado variando de 2% a 2,5%, as análises estatísticas para os mesmos não foram consideradas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Grande parte dos municípios brasileiros possui problemas em relação ao gerenciamento dos resíduos sólidos sob sua responsabilidade. Os problemas existem desde as etapas de acondicionamento, coleta, transporte até o destino final dos resíduos. De forma geral, o gerenciamento de resíduos sólidos no país é feito de forma empírica e pouco técnica, o que acarreta baixa eficiência das práticas adotadas, maus serviços prestados e descontentamento da população.

De todas as etapas incluídas no gerenciamento de resíduos sólidos, a que possui maior potencial de causar impactos ambientais e sociais é o destino final dos resíduos. Os locais de destino final acumulam todos os resíduos urbanos gerados em uma localidade e que não foram utilizados por algum tipo de tratamento. Nas maiores cidades do país, são encaminhadas para locais de destino final mais de cinco mil toneladas de resíduos todos os dias.

Os locais de destino final de resíduos, sejam eles lixões, aterros controlados ou aterros sanitários, possuem potencial poluidor, essencialmente, porque ali são gerados biogás e lixiviado, capazes de causar poluição do solo, de corpos hídricos, atmosférica, além de danos à saúde das populações que vivem em áreas próximas. A diferença dos aterros sanitários para os outros locais de destino final é que aqueles devem possuir, de acordo com normas técnicas e boas práticas de engenharia, dispositivos de controle de poluição com o objetivo de minimizar os seus impactos ambientais e sociais.

Mesmo sendo essencial para o controle dos impactos gerados pela disposição final de resíduos sólidos, o tratamento do lixiviado ainda representa uma das maiores dificuldades para a operação dos aterros existentes e a implantação de novos aterros no país. A grande variabilidade da composição do lixiviado ao longo da operação de um aterro e a presença de substâncias recalcitrantes ao tratamento nesse efluente faz com que muitas técnicas de tratamento utilizadas sejam pouco eficientes ou demasiadamente caras em relação ao custo de operação dos aterros.

Encaminhar o lixiviado gerado nos aterros de resíduos para tratamento em estações de tratamento de esgotos tem sido uma alternativa adotada em muitos países para tentar garantir o descarte do lixiviado dentro dos padrões legais exigidos e para reduzir os custos do tratamento do lixiviado.

A fim de produzir mais informações a respeito dessa alternativa de tratamento de lixiviado, esse trabalho se propôs a avaliar o tratamento combinado de lixiviado de aterro de resíduos sólidos urbanos e esgoto doméstico, em relação à eficiência de remoção de poluentes e a possíveis impactos na biota dos ecossistemas.

Inicialmente, foi realizado um amplo levantamento bibliográfico pertinente ao tratamento combinado de lixiviado e esgoto. Esse levantamento bibliográfico foi apresentado no primeiro artigo da coletânea. O artigo traz informações sobre a caracterização dos lixiviados e dos esgotos domésticos, normas e requisitos legais para recebimento de efluentes não domésticos em estação de tratamento de esgotos, além de estudos realizados em diversas configurações de tratamento combinado, mostrando suas eficiências e limitações.

Conclui-se dos estudos avaliados que a eficiência do tratamento combinado reside no estabelecimento de faixas de cargas orgânicas carbonácea e nitrogenada advindas do lixiviado a ser misturado com esgoto doméstico, em função da capacidade de tratamento das estações de tratamento de esgotos. Devido à variabilidade dos lixiviados entre os diferentes aterros, não se pode estabelecer um limite fixo para o percentual em volume de lixiviado a ser recebido em ETE de forma a não comprometer o tratamento. Alguns autores consideram o limite prático com sendo entre 10 e 20% em volume, enquanto outros trabalham com uma relação de até 2%, de forma a não comprometer a qualidade do efluente tratado.

A parte prática do trabalho começou com o monitoramento do tratamento do lixiviado do aterro do Morro do Céu de forma conjunta com esgoto doméstico na ETE Icaraí (Niterói – RJ). O monitoramento foi composto de caracterização físico-química utilizando parâmetros de controle de poluição estabelecidos em legislação pertinente; de ensaios ecotoxicológicos agudos realizados com organismos-teste de dois níveis tróficos (peixes e microcrustáceos) e da avaliação das vazões dos afluentes e efluente do tratamento combinado. Essa etapa do trabalho foi apresentada no segundo artigo da coletânea.

O monitoramento regular do tratamento do lixiviado do aterro do Morro do Céu na ETE Icaraí por aproximadamente 20 meses, indicou que a eficiência do sistema de tratamento avaliado sofreu pouca interferência do volume de lixiviado adicionado no afluente de esgoto a ser tratado.

O monitoramento físico-químico mostrou que, no período analisado, a introdução de lixiviado no tratamento não comprometeu o desempenho da ETE, que manteve a remoção de DQO e de sólidos suspensos totais dentro da faixa desejada para o tratamento primário quimicamente assistido em operação. A contribuição da vazão de lixiviados não ultrapassou 1,5% da vazão total afluente à ETE.

Os ensaios ecotoxicológicos agudos realizados, utilizando peixes e microcrustáceos, mostraram que, embora o lixiviado do aterro tenha elevada toxicidade, a mistura do lixiviado ao esgoto não aumentou a toxicidade do afluente à ETE. O efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto apresentou baixa toxicidade no período de monitoramento, atendendo ao padrão estabelecido pela legislação estadual.

Na etapa seguinte do trabalho, foram realizados bioensaios com peixes para monitoramento da exposição sub-crônica desses organismos ao efluente do tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico em uma estação de tratamento em escala piloto construída na área da ETE Icaraí. Os resultados dos ensaios de ecotoxicidade crônica foram apresentados no terceiro artigo da coletânea.

Foram avaliados nove biomarcadores em peixes do tipo Tilápia expostos ao efluente do tratamento combiando: Fator de Condição; nível de Metalotioneínas; atividade da enzima Acetilcolinesterase; concentração de metabólitos dos HPA's: Naftaleno, Pireno, Benzo(a)pireno e 1-Hidroxipireno; frequência de Micronúcleos; frequência de outras anormalidades nucleares.

Os biomarcadores que apresentaram diferenças significativas entre os peixes controles e os expostos foram concentração de HPA's, frequência de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares. Foram encontrados HPA's na bile dos peixes expostos em concentrações maiores do que nos peixes controles bem como maior frequência de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares naquele grupo. Esses dois resultados podem estar interligados visto que alguns HPA's, como Pireno e Benzo(a)pireno, possuem capacidade de causar danos genotóxicos.

A origem dos HPA's nos lixiviados pode estar relacionada com a presença desses poluentes nos resíduos descartados nos lixões e aterros controlados, com a queima de resíduos nesses locais e com a deposição ou arraste de HPA's presentes na atmosfera. Em aterros sanitários, espera-se menor concentração de HPA's no lixiviado devido ao maior controle dos resíduos recebidos, não sendo permitida a presença de resíduos industriais classificados como perigosos, e devido a não haver queima de

resíduos no local. Os HPA's advindos de deposição ou arraste de partículas atmosféricas é inerente a áreas urbanizadas, onde fontes desses compostos, como emissões por veículos e queima de carvão, estão presentes.

O uso de um conjunto de biomarcadores, com especificidades para identificação de danos associados a poluentes distintos, mostrou-se importante para minimizar possíveis erros de interpretação decorrentes do uso de apenas um indicador e para possibilitar uma avaliação mais ampla de danos sub-letais presentes em organismos expostos a fontes de poluição.

A hipótese considerada no trabalho, de que a adição de lixiviado de aterros de resíduos sólidos urbanos a esgoto doméstico a ser tratado não resultaria em menores eficiências de remoção de poluentes do que as esperadas para tratamento somente de esgoto pode ser aceita no monitoramento do tratamento combinado na ETE Icaraí. Estudos apresentados no artigo de revisão bibliográfica também confirmam que, em função da carga orgânica carbonácea e nitrogenada advinda do lixiviado é possível manter a eficiência do tratamento de esgotos.

A parte restante da hipótese considerada, de que o tratamento combinado não resultaria em efluente nocivo à biota presente nos ecossistemas que o receberiam pode ser aceita parcialmente. Ensaios de ecotoxicidade aguda mostraram que a mistura do lixiviado ao esgoto não aumentou a toxicidade do afluente à ETE. O efluente tratado apresentou baixos valores de toxicidade aguda a *Danio rerio*, inferiores ao limite estabelecido em legislação. Entretanto, peixes expostos em ensaios de ecotoxicidade crônica apresentaram maiores concentrações de HPA's e frequências de Micronúcleos e de outras anormalidades nucleares do que os controles.

Após avaliação global das etapas desenvolvidas nesse trabalho, é possível considerar o tratamento combinado de lixiviado e esgoto doméstico como uma importante alternativa de solução para o problema do tratamento de lixiviados gerados em locais de disposição final de resíduos. O tratamento combinado mostra-se mais recomendado para tratamento de lixiviados proveniente de aterros sanitários, onde devem ser recebidos apenas resíduos sólidos urbanos e outros resíduos classificados como não perigosos, o que deverá influenciar na composição dos lixiviados com menores concentrações de alguns poluentes danosos a organismos dos ecossistemas.

Recomenda-se, para continuidade do estudo do tratamento combinado de lixiviado e esgoto, o monitoramento de outras estações que tratem conjuntamente os

dois efluentes concomitantemente com o monitoramento de estações que tratem somente esgoto doméstico e que possuam configurações de tratamento similares. O monitoramento de estações com e sem lixiviado presente no processo de tratamento permitirá comparação mais ampla entre os resultados.

Recomenda-se ainda a identificação de outros biomarcadores que possam ser utilizados no monitoramento do tratamento combinado a fim de detectar, de forma sub-letal, um número maior de efeitos possíveis do efluente sobre os organismos vivos.

Finalmente, recomenda-se a utilização de ensaios de ecotoxicidade aguda e crônica para a avaliação e monitoramento de quaisquer técnicas e processos de tratamento de efluentes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. NBR 12713 - Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp*. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2003.

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. *Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil* – 2003. São Paulo: ABRELPE, 2004.

ABRELPE – Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. *Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil – 2010*. São Paulo: ABRELPE, 2011.

ALMEIDA, M.L.O.; VILHENA, A. (Coord.). *Lixo Municipal – Manual de Gerenciamento Integrado*. São Paulo: IPT/CEMPRE, 2000.

APHA, AWWA, WPCF. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. New York: 21th ed., 2005.

ARIAS, A. R. L.; INÁCIO, A. F.; NOVO, L. A.; VIANA, T. A. P.; ALBUQUERQUE, C. Utilização de Biomarcadores como Ferramenta de Monitoramento e Avaliação Ambiental: O Caso de Recursos Hídricos. *Mundo e Vida*, v.6, p. 34 – 41, 2005.

ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; NOVO, L. A.; ALBUQUERQUE, C.; MOREIRA, J. C. Multibiomarker approach in fish to assess the impact of pollution in a large Brazilian river, Paraiba do Sul. *Environmental Pollution*, v. 156, p. 974-979, 2008 A.

ARIAS, A. R. L.; INACIO, A. F.; ALBUQUERQUE, C.; FREIRE, M. M.; MOREIRA, J. C. Biomarkers in an invasive fish species, Oreochromis niloticus, to assess the effects of pollution in a highly degraded Brazilian River. *Science of the Total Environment*, v. 399, p. 186-192, 2008 B.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Atlanta, Georgia: ATSDR, 1995.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução n°357 - Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial [da União]*, Brasília, 18 de março de 2005.

BRASIL. CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução nº430 - 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, 16 de maio de 2011.

CASTILHOS Jr., A.B. (Coord.). Gerenciamento de Resíduos Sólidos Urbanos com Ênfase na Proteção de Corpos d'Água: Prevenção, Geração e Tratamento de Lixiviados de Aterros Sanitários. Rio de Janeiro: ABES, 2006.

CASTILHOS Jr., A.B. (Coord.). Resíduos Sólidos Urbanos: Aterro Sustentável para Municípios de Pequeno Porte. Rio de Janeiro: ABES, RiMa, 2003.

CETESB. NT / L5.019 - I - Teste de toxicidade aguda com peixes. Parte I - sistema estático. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1990.

COMLURB - Companhia Municipal de Limpeza Urbana (Município do Rio de Janeiro). Caracterização Gravimétrica e Microbiológica dos Resíduos Sólidos Domiciliares – 2009. Disponível em:

http://comlurb.rio.rj.gov.br/download/caracteriza% C3% A7% C3% A3o% 202009.pdf (acesso em 26/06/2010).

CONSEMA. Resolução nº 128, de 24 de novembro de 2006. Dispõe sobre a fixação de Padrões de Emissão de Efluentes Líquidos para fontes de emissão que lancem seus efluentes em águas superficiais no Estado do Rio Grande do Sul. *Diário Oficial [do Estado do Rio Grande do Sul]*, Porto Alegre, novembro de 2006.

COPAM. Deliberação Normativa nº 46, de 09 de agosto de 2001. Estabelece alteração no limite de eficiência de remoção em termos de Demanda Bioquímica de Oxigênio e Demanda Química de Oxigênio para os sistemas de tratamento de esgotos domésticos e de percolado de aterros sanitários municipais e dá outras providências. *Diário Oficial [do Estado de Minas Gerais]*, Belo Horizonte, 10 de agosto de 2001.

COSSU, R. Drainage and Collection of Leachate. In: Proceedings of International Training Seminar: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate, 1998, Venice, p. VII-1 a VII-14. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.

DEZOTTI, M. (Coord.) Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos. Rio de Janeiro: E-papers, 2008.

DIAMADOPOULOS, E.; SAMARAS, P.; DABOU, X.; SAKELLAROPOULOS, G.P. Combined Treatment of Landfill Leachate and Domestic

Sewage in a Sequencing Batch Reactor. *Water Science & Technology*, Great Britain, v. 36, p. 61-68, 1997.

EBERT, R. Estudo de Regulamentos para Recebimento de Efluentes Não Domésticos no Sistema Público de Esgotos. In: 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, p. 232-240, 1999.

EHRIG, H. J. Co-treatment in Domestic Sewage Facilities. In: Proceedings of International Training Seminar: Management and Treatment of MSW Landfill Leachate, 1998, Venice. Cagliari (Italy): CISA – Sanitary Environmental Engineering Centre, 1998.

ELMANN, G. L.; COURTNEY, K.; ANDRES, JR A.; FEATHERSTONE, R. A New and Rapid Colorimetric Determination of Acetylcholinesterase Activity. *Biochemical Pharmacology*, v.7, p. 89-95, 1961.

EPA – Environmental Protection Agency. Guidance for Assessing Chemical Contaminant Data for Use in Fish Advisories – Volume 2: Risk Assessment and Fish Consumption Limits. Washington, DC: EPA, 2000.

FACCHIN, J.M.J.; COLOMBO, M.C.R.; COTRIM, S.L.S.; REICHERT, G.A. Avaliação do Tratamento Combinado de Esgoto e Lixiviado de Aterro Sanitário na ETE LAMI (Porto Alegre) após o Primeiro Ano de Operação. In: Anais do 27º Congresso INTERAMERICANO de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000, Porto Alegre. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2000.

FEEMA. NT-202.R-10, aprovada pela Deliberação CECA nº1007, de 04 de dezembro de 1986. Critérios e padrões para lançamento de efluentes líquidos. *Diário Oficial [do Estado do Rio de Janeiro]*, Rio de Janeiro, 12 de dezembro de 1986.

FEEMA. NT-213, aprovada pela Deliberação CECA nº1.948, de 04 de setembro de1990. Critérios e padrões para controle de toxicidade em efluentes líquidos industriais. *Diário Oficial [do Estado do Rio de Janeiro]*, Rio de Janeiro, 18 de outubro de 1990.

FEEMA. NT-1005.R-21, aprovada pela Deliberação CECA nº 3.622, de 24 de abril de 1997. Praguicidas e suas concentrações permitas para utilização em serviços de controle de vetores e pragas urbanas. *Diário Oficial [do Estado do Rio de Janeiro]*, Rio de Janeiro, 12 de maio de 1997.

FEEMA. DZ-205.R-6, aprovada pela Deliberação CECA nº4887, de 25 de setembro de 2007. Diretriz de controle de carga orgânica em efluentes líquidos de origem industrial. *Diário Oficial [do Estado do Rio de Janeiro]*, Rio de Janeiro, 08 de novembro de 2007.

FERREIRA, J.A.; EIGENHEER, E.; ADLER, R.R.; DOS SANTOS, M.F. Plano de Gestão do Encerramento do Aterro do Morro do Céu em Niterói (RJ). In: Anais do 23º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005, Campo Grande. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2005.

FERREIRA, J.A. et al. Uma Revisão das Técnicas de Tratamento de Chorume e a Realidade do Estado do Rio de Janeiro. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001, Paraíba. Anais do 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2001.

FREIRE, M.M. Determinação de Metabólitos de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Biles de Peixes como Biomarcador na Baía De Guanabara. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2008.

FREIRE, M.M.; SANTOS, V.G.; GINUINO, I.S.F.; ARIAS, A. R. L. Biomarcadores na Avaliação da Saúde Ambiental dos Ecossistemas Aquáticos. *Oecol. Bras.*, v. 12 (3), p. 347-354, 2008.

GIORDANO, G. Análise e Formulação de Processos para Tratamento de Chorumes Gerados em Aterros de Resíduos Sólidos Urbano. Tese de Doutorado. Departamento de Ciências dos Materiais e Metalurgia, Pontifícia Universidade Católica. Rio de Janeiro, 2003.

GOMES, L.P. (Coord.). Estudos de Caracterização e Tratabilidade de Lixiviados de Aterros Sanitários para as Condições Brasileiras. Rio de Janeiro: ABES, 2009.

HAMILTON, M.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Karber Method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science and Technology*, v.11, p. 714-719, 1977.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2000*. Rio de Janeiro: IBGE, 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008*. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

INÁCIO, A. F. Metalotioneína e Metais em Geophagus brasiliensis – Acará. Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2006.

JORDÃO, E.P.; PESSÔA, C.A. *Tratamento de Esgotos Domésticos*. Rio de Janeiro: ABES, 2005.

KJELDSEN, P.; BARLAZ. M.A.; ROOKER, A.P.; BAUN, A.; LEDIN, A.; CHRISTENSEN, T.H. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 32, n.4, p.297-336, 2002.

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. Testes Ecotoxicológicos – Métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA, GTZ, 2004.

LEMA, J.M.; MENDEZ, R.; BLAZQUEZ, R. Characteristics of Landfill Leachates and Alternatives for Their Treatment: A Review. *Water, Air, and Soil Pollution*, v.40, p.223-250, 1988.

MARTTINEN, S.K.; KETTUNEN, R.H.; RINTALA, J.A. Occurrence and Removal of Organic Pollutants in Sewages and Landfill Leachates . *The Science of the Total Environmental*, v. 301, p. 1-12, 2003.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. *Mutation Research*, v. 567, p. 109-149, 2004.

OLIVEIRA-SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; INÁCIO, A. F.; MEYER, A.; SARCINELLI, P. N.; FERREIRA, M. F.; CUNHA, J. C.; MOREIRA, J. C. Cholinesterase Activities Determination in Froozen Blood Samples: an Improvement to the Occupational Monitoring in Developing Countries. *Hum. Exp. Toxicol.*, v.19, p. 173-177, 2000.

PAGANINI, W.S.; BOCCHIGLIERI, M.M.; LOPES, G.F. Avaliação da Capacidade das Estações de Tratamento de Esgotos do Sistema Integrado da Região Metropolitana de São Paulo – RMSP – para o Recebimento do Chorume Produzido nos Aterros Sanitários da Região. In: Anais do 22º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003, Joinville. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2003.

RASPOR, B. Elucidation of the Mechanism of the Brdička Reaction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 503, p. 159–162, 2001.

SÁNCHEZ-GALÁN S.; LINDE A.R.; IZQUIERDO, J.I.; GARCÍA-VÁZQUEZ, E. Micronuclei and fluctuating asymmetry in brown trout (Salmo trutta): complementary methods to biomonitor freshwater ecosystems. *Mutation Research*, v.412, p.219–25, (1998).

SANT'ANNA JR, G. L. *Tratamento biológico de efluentes: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Interciência, 2010.

SANTOS, E.S.; NETO, M.F.; MOTA, S.; SANTOS, A.B.; AQUINO, M.D. Cultivo de Tilápia do Nilo em Esgoto Doméstico. *Revista DAE*, v. 180, p. 4-11, 2009.

SISINNO, C.L.S.; MOREIRA, J.C. Avaliação da Contaminação e Poluição Ambiental na Área de Influência do Aterro Controlado do Morro do Céu, Niterói, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v.12, p.515 – 523, 1996.

SISSINO, C.L.S.; OLIVEIRA, R.M. (Org). *Resíduos Sólidos, Ambiente e Saúde – Uma Visão Multidisciplinar*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000.

SOARES, C. Análise das Implicações Sociais, Econômicas e Ambientais Relacionadas ao Uso da Piscicultura - O Caso Fazenda Princesa do Sertão - Palhoça/Sc. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

TCHOBANOGLOUS, G.; THEISEN, H.; VIGIL, S.A. Integrated *Solid Waste Management, Engineering Principles and Management Issues*. New York: McGraw-Hill, 1993.

TCHOBANOGLOUS, G.; KREITH, F. Handbook of Solid Waste Management. New York: McGraw-Hill, 2002.

TSUTIYA, M.T. Metais Pesados: O Principal Fator Limitante para O Uso Agrícola de Biossólidos das Estações de Tratamento de Esgotos. In: Anais do 20° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental, 1999.

VIARENGO, A.; LOWE, D.; BOLOGNESI, C.; FABBRI, E.; KOEHLER, A. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology part C: Toxicology and Pharmacology*, v.146(3), p.281-300, 2007.

VON SPERLING, M. *Princípios do tratamento biológico de águas residuárias* - *Volume 1: Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos*. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG, 3ª ed., 2005.

www.ancystrus.com.ar – imagem de *Daphnia similis* (acesso em 29/01/2009)

Observação: As referências bibliográficas citadas nos artigos estão apresentadas ao final dos mesmos.

ANEXO 1 FIGURAS ILUSTRATIVAS



Figura 1 - Vista aérea do aterro do Morro do Céu.

Fonte: Foto cedida pela empresa CLIN.



Figura 2 - Vista aérea da ETE Icaraí.

Fonte: Foto cedida pela empresa Águas de Niterói.



Figura 3 - Amostras coletadas para ensaios de caracterização e ensaios de ecotoxicidade aguda.



Figura 4 - Peixes *Danio rerio* em aclimatação em aquário para os ensaios de ecotoxicidade aguda.



Figura 5 - Imagem ilustrativa de *Daphnia similis* usada em ensaios de ecotoxicidade aguda.

Fonte: www.ancystrus.com.ar



Figura 6 - Estação de tratamento por lodos ativados em escala piloto.



Figura 7 - Aquário construído para os ensaios de toxicidade sub-crônica.



Figura 8 - Transporte dos peixes Tilápia para os ensaios de toxicidade sub-crônica.



Figura 9 - Transporte dos peixes Tilápia para os ensaios de toxicidade sub-crônica.



Figura 10 - Medição do comprimento de um peixe Tilápia para avaliação de biomarcadores.



Figura 11 - Pesagem de um peixe Tilápia para avaliação de biomarcadores.



Figura 12 - Amostras de sangue de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores.



Figura 13 - Amostras de bile de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores.



Figura 14 - Amostras de fígado de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores.



Figura 15 - Amostras de músculo de peixes Tilápia para avaliação de biomarcadores.

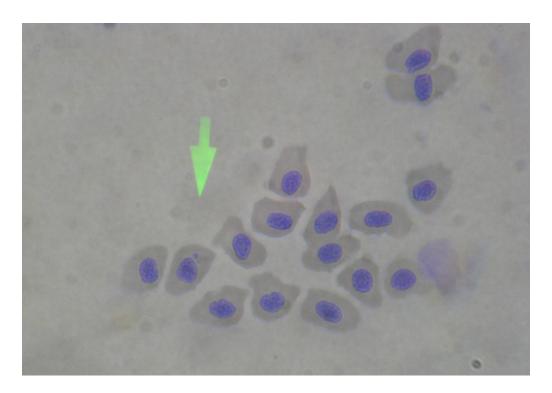


Figura 16 - Imagem de célula de sangue de peixe Tilápia com micronúcleo.