

Padrões de toxicidade do lixiviado de biossólido

Toxicity standards of biosolid leachate

Rafael Lucas Alexandre¹; Caroline Menezes Manzatto¹; Emilyly Giacobbo¹; Robert William Florentino¹; Kelly Geronazzo Martins²

¹Mestrando em Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Irati, Paraná, Brasil.

Orcid: 0009-0008-2540-3224. E-mail: rafael.lucas.alexandre@gmail.com;

Orcid: 0009-0008-4669-2758. E-mail: carolmmanzatto@gmail.com;

Orcid: 0009-0000-3166-9530. E-mail: emillygiacobbo26@gmail.com;

Orcid:0009-0004-3261-8785. E-mail: robertwilliam1517@gmail.com.

²Professora do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Irati, Paraná, Brasil. Orcid: 0000-0002-0447-4444. E-mail: kellygm77@gmail.com.

RESUMO: O tratamento de esgoto nas cidades brasileiras gera biossólidos que podem ser úteis na agricultura, mas contêm riscos de contaminação ambiental e à saúde. Testes de ecotoxicidade são cruciais para garantir a segurança desse uso, avaliando a toxicidade do biossólido no solo e na água. Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a fitotoxicidade de lixiviado de biossólido, utilizando sementes de alface. Para isso, foram utilizadas placas de Petri para a incubação das sementes, que receberam o lixiviado do biossólido e permaneceram em temperatura controlada e ausência de luz durante 168 horas. De forma geral, os parâmetros avaliados, demonstraram que o lixiviado de biossólido quando diluído até 60% apresenta efeito positivo, ou seja, estimula o crescimento das plântulas bem como a germinação, entretanto, quando aplicado sem qualquer diluição, é observado efeito fitotóxico, reduzindo a germinação das sementes e os parâmetros de crescimento. Nesse contexto, conclui-se que quanto menor a concentração do lixiviado, maior o crescimento das raízes da *Lactuca sativa*, o que demonstra efeito fitotóxico do lixiviado.

Palavras-chave: Fitotoxicidade; *Lactuca sativa*; lodo de esgoto.

ABSTRACT: Sewage treatment in Brazilian cities generates biosolids that can be useful in the agricultural field, although they pose contamination risks to the environment and to human health. Ecotoxicity tests are essential to ensure the safety of such a use, since they assess biosolids' toxicity in the soil and in water. The aim of the current study is to assess biosolids leachate phytotoxicity by using lettuce seeds. In order to do so, Petri dishes were used to incubate the seeds, which received the biosolids leachate and remained under controlled temperature conditions, in the dark, for 168 hours. Overall, the herein assessed parameters have evidenced that the biosolids leachate diluted up to 60% had positive effect on (i.e., it stimulated) seedling growth and germination. However, phytotoxic effect was observed when it was applied without any dilution, since it reduced seed germination and growth parameters. Therefore, the lower the leachate concentration, the higher the *Lactuca sativa* root growth, a fact that highlights the phytotoxic effect of this leachate.

Keywords: Phytotoxicity; *Lactuca sativa*; sewage sludge.

INTRODUÇÃO

Historicamente, os centros urbanos recebem cada vez mais habitantes e concomitante ao desenvolvimento que esses conjuntos populacionais geram, a necessidade de tratamento de efluentes aumenta. Segundo o Panorama do Saneamento Básico no Brasil, há cerca de 362,4 mil quilômetros de rede de coleta de esgotos, abrangendo 55% da população do país, que gira em torno de 214 milhões de habitantes. Com isso, o Brasil coleta esgoto sanitário de aproximadamente 117 milhões de pessoas (Brasil, 2021).

O esgoto coletado é direcionado para estações de tratamento de esgoto (ETE), onde passa por diversos níveis de tratamento, sendo eles: o preliminar, para remoção de sólidos grosseiros; o primário, para a remoção de sólidos e DBO em suspensão; e o secundário, onde a DBO solúvel é removida. Algumas ETEs ainda contam com o tratamento terciário, para a remoção de nutrientes, organismos patogênicos, compostos não biodegradáveis, metais pesados, sólidos suspensos remanescentes e inorgânicos (Sperling, 2018).

O resíduo resultante do tratamento do esgoto é o biossólido, que, caso não possua forma correta de manejo, pode causar grandes danos ambientais. Por outro lado, esse subproduto pode ser incorporado em solos agrícolas, devido à grande quantidade de nutrientes presentes em sua composição. Essa incorporação, além de configurar-se como uma prática que pode contribuir para melhorar os aspectos químicos, físicos e biológicos do solo, pode gerar economia para agricultores na adubação do solo (Polleti *et al.*, 2017). Anjos e Mattiazzo (2000), realizando aplicações no solo do lixiviado do biossólido, encontraram em seus resultados que aplicações constantes podem elevar o teor do nitrogênio nítrico no lixiviado de solos tratados com biossólidos.

Entretanto, o lodo também contém elementos tóxicos e organismos patogênicos. Alonso (2018), através de uma revisão bibliográfica, apresentou conceitos desde a produção do biossólido proveniente de lodo de esgoto, bem como sua caracterização, condições químicas e microbiológicas, a relação com micropoluentes orgânicos e a possível aplicabilidade para o cultivo de mudas florestais. O autor cita sobre a problemática perante a presença de metais pesados, agentes patogênicos e bacteriológicos e compostos orgânicos como medicamentos, produtos de limpeza e defensivos agrícolas, fatores esses que podem tornar o uso do biossólido uma problemática à saúde pública e ao meio ambiente, devido o fator de contaminação.

A contaminação das águas subterrâneas é um problema que pode depender de vários fatores que modificam suas características qualitativas, tais como: deposição atmosférica, processos de dissolução e/ou hidrólise no aquífero, bem como sua mistura com esgotos ou águas salinas. As contaminações em águas subterrâneas estão associadas a despejos domésticos e industriais, chorume proveniente de aterros e aplicação incorreta de resíduos orgânicos. Essas práticas contaminam águas devido aos organismos patogênicos, contaminação por ânions, principalmente os nitrogenados, e metais existentes no solo através de sua liberação e mobilização (Freitas; Brilhante; Almeida, 2001). Soma-se a isso a lixiviação de nitrato, um dos maiores problemas do lixiviado de biossólido, que está associada a dois efeitos adversos para a saúde: (1) desenvolvimento da metemoglobinemia, ocorre especificamente em crianças, conhecida como síndrome do 'bebê azul' e (2) formação potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas (Feng; Wang; Feng, 2005; Bouchard; Williams; Surampalli, 1992).

A Resolução Conama nº 498/2020, traz os critérios e os procedimentos tanto para a produção como para a aplicação de biossólido em solos, sendo exposto no Art. 7º que o

biossólido, desde a etapa da geração até a aplicação, deve estar em harmonia com o meio ambiente através de monitoramento da qualidade (Brasil, 2020). Sendo assim, avaliar suas características é essencial para realizar o seu descarte de forma não prejudicial ao meio ambiente e ao ser humano, sendo algumas opções de destinação o aterro sanitário, uso em áreas agrícolas, a incineração e para recuperação de áreas degradada (Bettiol; Camargo, 2006).

Deste modo, a realização do teste de ecotoxicidade é de suma importância para observar a capacidade tóxica deste resíduo no solo, que juntamente com análises físico-químicas, pode contribuir na conservação do solo e da água (Michelan *et al.*, 2021; Polleti *et al.*, 2017).

Para a realização do teste toxicológico do biossólido, pode-se utilizar sementes, devido a sua facilidade de análise e baixo custo. A avaliação pode ser definida através de dados de índice de germinação, índice de crescimento relativo e índice de alongamento da radícula (Mendes *et al.*, 2020). Uma das sementes mais utilizadas para realização dos testes de toxicidade são as de alface (*Lactuca sativa*), pois apresenta facilidade de avaliação e se obtém resultados em um curto período de tempo. Após a germinação das sementes com aplicação do poluente, avalia-se o crescimento da raiz e caule, além da quantidade de sementes que germinaram. Em geral, quanto menor for o crescimento das raízes, maior será o efeito tóxico do poluente (Mendes *et al.*, 2020; Barbosa *et al.*, 2022).

Com isso, o presente estudo foi conduzido em escala de bancada com o propósito de avaliar a fitotoxicidade do lixiviado de biossólido proveniente de uma estação de tratamento de efluentes, utilizando sementes de alface como indicadoras, por meio da análise da taxa de germinação e dos índices de crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Química e Ecotoxicologia, nas dependências do departamento de Engenharia Ambiental, localizado na Universidade Estadual do Centro-Oeste, campus Irati/Paraná. Para o experimento foi necessário o uso de 21 placas de Petri esterilizadas, onde foi adicionado o papel filtro, o efluente e as sementes. O biossólido é oriundo da ETE do Rio das Antas, de Irati – PR. Na estação, o lodo, proveniente de esgoto eminentemente doméstico, passou pelo processo de calagem em 2022, com utilização de 35% de cal virgem, e pelo processo de estabilização durante três meses. As características físico-químicas e microbiológicas do biossólido estão de acordo com a Resolução nº 498, estabelecida pelo CONAMA (Brasil, 2020).

Para a obtenção do lixiviado, cerca de 100g do lodo tratado foi inserido em um funil de vidro suspenso por um suporte universal, posteriormente 200 ml de água destilada foram gradativamente adicionados na amostra de biossólido, onde o lixiviado, proveniente do ensaio, foi acondicionado em um béquer.

O lixiviado produzido foi coletado e diluído em água deionizada nas seguintes proporções: 60%, 70%, 80%, 90% e 100% (lixiviado bruto).

Ensaio de fitotoxicidade

Para avaliar a sensibilidade das sementes frente a um composto tóxico conhecido, foi utilizado como controle positivo (+) soluções de sulfato de zinco e, para verificar sanidade do lote foi empregado como controle negativo (-) água destilada.

Os experimentos com as amostras controles foram realizados no mesmo padrão que os ensaios com as soluções-teste. Foram utilizadas sementes de *L. sativa*, ou comumente conhecida alface branca, oriundas de cultivo orgânico. O experimento ocorreu em triplicata, sendo utilizadas 10 sementes por placa de Petri, totalizando 210 sementes no total.

As placas de Petri foram previamente limpas e secas, e nelas foram alocados papéis-filtro qualitativos de 9 cm de diâmetro, os quais foram umedecidos com as diluições do lixiviado. Com auxílio de uma pinça, foram distribuídas uniformemente as 10 sementes em cada placa. A fim de mitigar a evaporação do lixiviado, as placas de Petri foram envolvidas em parafilm. Terminado o processo de preparação dos experimentos, as placas foram mantidas em incubadora com temperatura constante de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, por 168 horas, e na ausência de luz para que então fossem realizadas as análises de crescimento.

Após os sete dias de incubação, foi realizada a contagem de sementes germinadas em cada placa, bem como a verificação do comprimento das raízes e caules de cada plântula. Essa etapa foi realizada em laboratório com auxílio de pinça e régua milimetrada.

A quantificação de germinação e comprimentos do caule e da radícula das plântulas de alface, servem de base para os cálculos, realizado por meio das seguintes formulas:

Índice de crescimento relativo “equação (1)”

$$ICR = \frac{MCA}{MC_{CN}} \quad (1)$$

Sendo:

ICR = Índice de Crescimento Relativo;

MCA = Média de Crescimento da Amostra, em centímetros;

MCcn = Média de Crescimento do Controle Negativo, em centímetros.

Índice de alongamento da radícula “equação (2)”

$$IAR = \frac{MARA}{MARC} \quad (2)$$

Sendo:

IAR = Índice de Alongamento Radicular;

MARa = Média do Alongamento da Radícula na Amostra, em centímetros;

MARcn = Média do Alongamento da Radícula no Controle Negativo, em centímetros.

Os valores de IAR foram classificados em três categorias, de acordo com os efeitos tóxicos observados:

- Inibição do alongamento da radícula (I): $0 < IAR < 0,8$;
- Não houve efeito significativo (NES): $0,8 \leq IAR \leq 1,2$;
- Estimulação do alongamento da radícula (E): $IAR > 1,2$.

Índice de germinação “equação (3)”

$$IG = \left(\frac{ICR_a * SG}{SG_{CN}} \right) * 100 \quad (3)$$

Sendo:

IG = Índice de Germinação;

ICRa = Índice de Crescimento Relativo da Amostra;

SG = Número de Sementes Germinadas;

SGcn = Número de Sementes Germinadas no Controle Negativo.

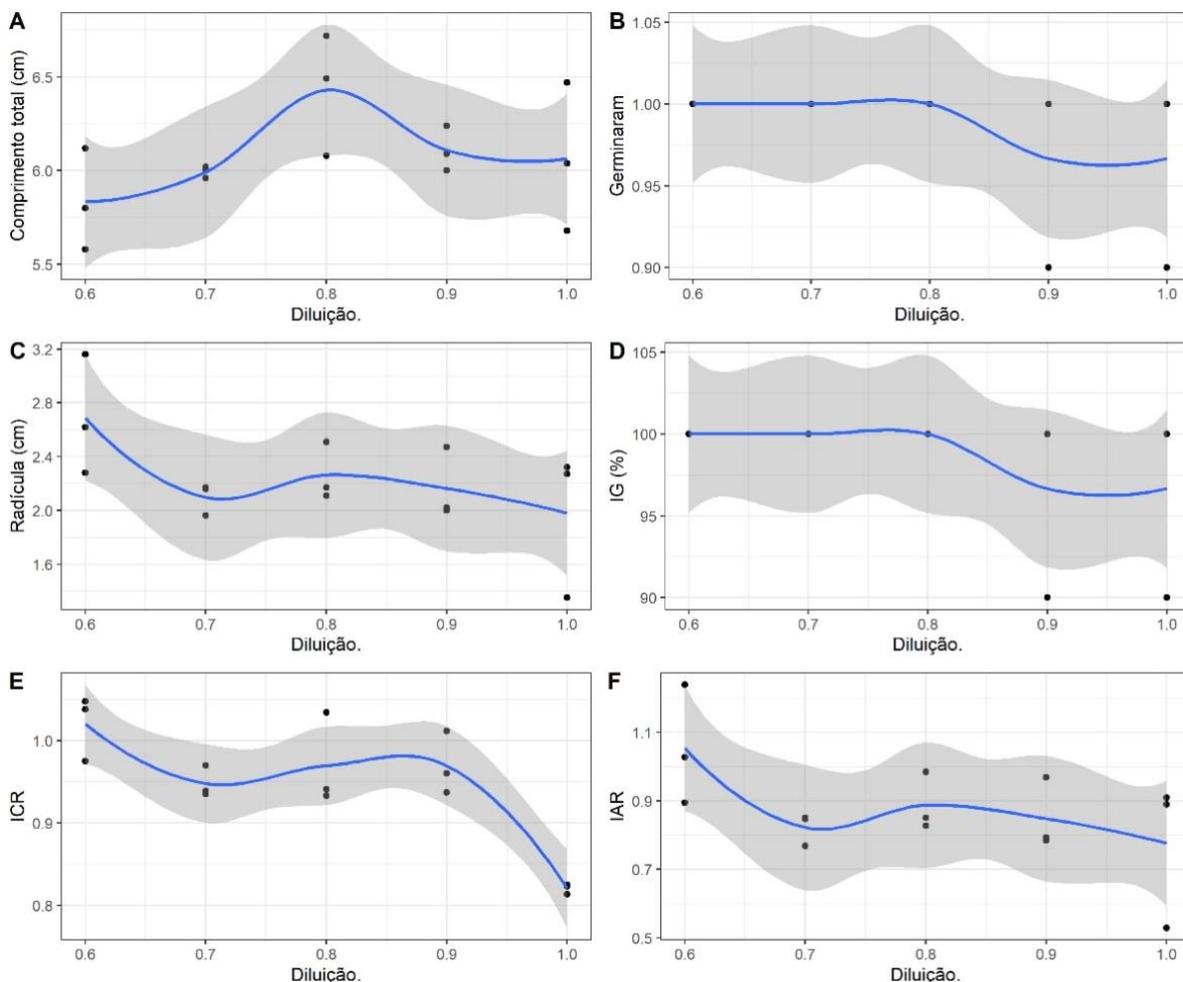
Análise de dados

O experimento seguiu um delineamento inteiramente casualizado com três repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância com um fator (diluição e controles), e as diferenças entre as médias foram asseguradas pelo teste de Tukey a 5% de significância. As premissas de homogeneidade e gaussianidade foram checadas pelos testes de Bartlett e Shapiro-Wilks respectivamente. O nível de confiança foi de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao menos 90% das sementes germinaram em todas as placas, sendo diluído ou não, o que demonstra uma baixa fitotoxicidade do lixiviado. Steffler *et al.* (2018) também encontraram resultados parecidos, quando realizaram sua pesquisa utilizando biossólido proveniente da mesma ETE. Segundo os autores, para os resultados encontrados, doses de até 25 t.ha⁻¹ não implicam em aumento significativo de nitrato no percolado, porém doses superiores a 80 t.ha⁻¹ não devem ser aplicadas, visto que essa aplicação resultaria em doses nocivas de nitrato nas águas subterrâneas, ou seja, assim como no presente estudo, os autores encontraram que doses elevadas de biossólido provocaram efeitos negativos.

Figura 1 – Valores de comprimento total, germinação, crescimento de radícula, IG, ICR e IAR



As demais variáveis investigadas, demonstraram efeito significativo das diluições, onde o lixiviado bruto apresentou valores menores no crescimento da radícula e comprimento total da planta, como também nos índices de alongamento radicular e de crescimento. As diluições influenciaram positivamente na germinação das alfaces.

De acordo com o **Figura 1**, houve estimulação do comprimento total até a dosagem de 80%, e em dosagens superiores o comprimento total das plântulas de alface diminuíram gradativamente. Sobre a germinação, é possível afirmar que, também até a dosagem de 80%, se manteve constante, tendo germinado todas as sementes. E nas dosagens de 90% a 100%, pelo menos uma semente não germinou, evidenciando que as altas dosagens tem um efeito tóxico sobre as sementes de alface.

A dosagem de 60% foi a que teve mais efeito estimulante para o índice de crescimento relativo, tendo as outras dosagens efeito negativo para o mesmo parâmetro, como é possível verificar, também, na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Valores médios referente ao índice de crescimento relativo (ICR), índice de alongamento da radícula (IAR) e índice de germinação (IG) conforme cada concentração de lixiviado de biossólido

Concentração de lixiviado de lodo de ETE (%)	ICR (cm)	IAR (cm)
60	1,02	1,05
70	0,95	0,82
80	0,97	0,89
90	0,97	0,85
100	0,92	0,78
Controle (-)	1,00	1,00
Controle (+)	0,80	0,73

Sobre o índice de alongamento radicular, é possível verificar na **Tabela 2** que, para as dosagens de 60%, 70%, 80%, 90% e Controle Negativo, não houveram efeitos significativos para as sementes, visto que os seus valores ficaram entre 0,8 e 1,2. Já para a dosagem de 100% e Controle Positivo, houve inibição do alongamento radicular, visto que seu valor ficou abaixo de 0,8.

Ainda na **Tabela 2**, as variáveis com mesma letra não apresentam diferenças estatísticas significativas entre si, e as variáveis com letras diferentes apresentam diferenças estatísticas significativas.

Tabela 2 - Comparação de igualdade estatística entre as diluições

Diluição	Comprimento (cm)	Germinação (%)	AR (cm)	AC (cm)	IAR	IG (%)	ICR
controle +	4,19 b	0,97 a	1,86 a	0,73 a	0,73 a	96,67 a	0,80 b
controle -	5,25 a	1,00 a	2,55 a	1,00 a	1,00 a	100 a	1,00 a
100%	4,31 b	1,00 a	1,98 a	0,78 a	0,78 a	100 a	0,82 b
90%	5,09 a	1,00 a	2,16 a	0,85 a	0,85 a	100 a	0,97 a
80%	5,09 a	1,00 a	2,26 a	0,89 a	0,89 a	100 a	0,97 a
70%	4,98 a	1,00 a	2,10 a	0,82 a	0,82 a	100 a	0,95 a
60%	5,36 a	1,00 a	2,69 a	1,05 a	1,05 a	100 a	1,02 a

Dessa forma, é possível concluir que o controle negativo e as diluições 90%, 80%, 70% e 60% não apresentam diferenças estatísticas entre si, e são diferentes estatisticamente do controle positivo e do lixiviado bruto, sendo estes iguais estatisticamente.

Polleti *et al.* (2017), realizaram um experimento semelhante com sementes de alface e encontraram que o crescimento da raiz foi significativamente diferente para os diferentes tipos de tratamentos a que foram submetidas as sementes.

CONCLUSÕES

Por mais que, para os parâmetros avaliados, não houveram diferenças estatísticas significativas entre as diluições, é notório que, o crescimento das plântulas de alface e a concentração do lixiviado tem uma relação inversamente proporcional, ou seja, quanto menor a concentração do lixiviado, maior o crescimento das raízes da *L. sativa*, o que demonstra efeito fitotóxico do lixiviado.

De forma geral, a diluição de 60% foi a menos nociva para as sementes de alface, porém, para os parâmetros comprimento e ICR, estatisticamente não existe diferenças significativas entre as diluições 60%, 70%, 80% e 90%, ou seja, nestas diluições não existe efeito tóxico para o crescimento das plântulas de alface.

Já o controle positivo e a dosagem de 100% apresentaram efeitos tóxicos para este parâmetro. Para os demais parâmetros avaliados, nenhuma das diluições e controles apresentaram diferenças estatísticas significantes entre si.

REFERÊNCIAS

ALONSO, J. M. **Caracterização de Biossólidos para a Produção de Mudanças de Espécies Arbóreas da Mata Atlântica**. 2018. 116 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

ANJOS, A. R. M.; MATTIAZZO, M. E. Lixiviação de íons inorgânicos em solos repetidamente tratados com biossólido. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 24, n. 4, p. 927-938, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-0683200000400024>.

BARBOSA, D. B.; LUIZ, A. P.; BEATI, A. A. G. F.; OLIVEIRA, L. L. D. Análise da adsorção de diclofenaco sódico na água pela casca de banana com avaliação da toxicidade utilizando a espécie de alface *lactuca sativa* (plantae, magnoliophyta). **Ensaios USF**, v. 5, n. 1, 2022. DOI: <https://doi.org/10.24933/eusf.v5i1.214>.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. **Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006.

BOUCHARD, D. C.; WILLIAMS, M. K.; SURAMPALLI, R. Y. Nitrate contamination of groundwater; sources and potential health effects. **Journal of the American Water Works Association**, v. 84, n. 9, p. 85-90, 1992. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1992.tb07430.x>.

BRASIL. Resolução do CONAMA n. 498, de 19 de agosto de 2020. Define critérios e procedimentos para produção e aplicação de biossólido em solos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 265-269, 21 ago. 2020.

- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Regional. **Panorama do Saneamento Básico no Brasil 2021**. Brasília/DF, 2021.
- FENG, Z. Z. WANG, X. K.; FENG, Z. W. Soil N and salinity leaching after the autumn irrigation and its impact on groundwater in Hetao Irrigation District, China. **Agricultural Water Management**, v. 71, n. 2, p. 131-143, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2004.07.001>.
- FREITAS, M. B.; BRILHANTE, O. M.; ALMEIDA, L. M. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. **Caderno de Saúde Pública**, v. 17, n. 3, p. 651–660, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2001000300019>.
- MENDES, P. M.; NETO, J. C. P.; GONÇALVES, L. B.; MACEDO, S. C.; ARAÚJO, T. R.; RODRIGUES, A. L. *et al.* Aprimoramento do ensaio fitotóxicológico com germinação de sementes de alface: confiabilidade e acurácia do método. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 4, p. 18178-18184, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n4-112>.
- MICHELAN, D. C. de G. S.; SANTOS, W. N. A.; ROSA, T. S.; SANTOS, D. G.; JESUS, R. C. S. Uso do coagulante/floculante emergente à base de moringa no tratamento de água com verificação da composição e toxicidade do lodo produzido: tratamento de água com Moringa e toxicidade do lodo. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 26, n. 5, p. 955-963, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-415220200314>.
- POLLETI, E. C. C.; SILVA, J. P. P.; AMORIM, M. F.; FILHO, J. L. P.; PIRES, M. S. G. Análise de sensibilidade e de efeitos toxicológicos da aplicação de lodo de esgoto em sementes. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 8, n. 2, p. 130-137, 2017. DOI: <http://doi.org/10.6008/SPC2179-6858.2017.002.0011>.
- SPERLING, M. V. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2018.
- STEFFLER, M.; STEFFLER, V.; GUERI, M. V. D.; MARTINS, K. G. Percolado de nitrato em Cambissolo adubado com diferentes doses de biossólido. **Biofix Scientific Journal**, v. 2, n. 2, p. 38-42, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/biofix.v2i2.55223>.

Recebido em: 14/09/2023

Aprovado em: 29/04/2024