

# O uso da espécie de planária *Girardia tigrina* como bioindicador da qualidade de efluente tratado por meio de ensaios de toxicidade

*The use of planarian species Girardia tigrina as bioindicator of effluent quality treated by means of toxicity tests*

• **Data de entrada:**

02/04/2019

• **Data de aprovação:**

23/11/2021

Angela dos Santos Barretto<sup>1\*</sup> | Edson Aparecido Abdul Nour<sup>1</sup> | Eloisa Maria Reis dos Santos<sup>2</sup> | Ligia Maria Domingues<sup>1</sup> | Fernando Pena Candello<sup>1</sup>

DOI: <https://doi.org/10.36659/dae.2023.004>

## ORCID ID

Barretto AS  <https://orcid.org/0000-0003-3613-0467>

Nour EAA  <https://orcid.org/0000-0002-6178-0878>

## Resumo

O estudo teve por objetivo avaliar um efluente contendo formaldeído tratado por um sistema combinado composto por filtro anaeróbico, biofiltro aerado e um decantador. O sistema operou com tempo de detenção hidráulica de 16 horas, sendo 8 horas para cada reator; a vazão de operação que alimentava o sistema foi de 49,0 mL min<sup>-1</sup>, totalizando 52,9 L dia<sup>-1</sup>. O estudo dividiu-se em quatro fases, determinadas pela concentração de formaldeído afluente: 100, 200, 400 e 500 mg HCHO L<sup>-1</sup>. Para avaliar a eficiência do tratamento, foram realizados ensaios de toxicidade com *Girardia tigrina* em três pontos de amostragem. Os resultados obtidos para CL50 nas concentrações estudadas de 100, 200 e 400 mg HCHO L<sup>-1</sup> variaram de 82,35 a valores não detectados (ND). Na concentração de 500 mg HCHO L<sup>-1</sup>, o efluente tratado foi significativamente tóxico. A espécie demonstrou ser sensível ao efluente nas condições de operação do sistema de tratamento em todo o período de estudo.

**Palavras-chave:** Sistema combinados de tratamento. Ecotoxicologia. Formaldeído. *Girardia tigrina*.

## Abstract

The study aimed to evaluate a formaldehyde-treated effluent treated by a combined system composed of anaerobic filter, aerated biofilter and a decanter. The system operated with hydraulic detention time of 16 hours, with 8 hours for each reactor; the operating flow that fed the system was 49.0 mL min<sup>-1</sup>, totaling 52.9 L day<sup>-1</sup>. The study was divided into four phases, determined by the affluent formaldehyde concentration: 100, 200, 400 and 500 mg HCHO L<sup>-1</sup>. To evaluate the efficiency of the treatment, toxicity tests with *Girardia tigrina* were carried out at three sampling points. The results obtained for LC50 at the studied concentrations of 100, 200 and 400 mg HCHO L<sup>-1</sup> ranged from 82.35 to undetected (ND) values. At the concentration of 500 mg HCHO L<sup>-1</sup>, the treated effluent was significantly toxic. The species showed to be sensitive to the effluent under the operating conditions of the treatment system throughout the study period.

**Keywords:** Combined treatment systems. Ecotoxicology. Formaldehyde. *Girardia tigrina*.

<sup>1</sup> Unicamp - Campinas - São Paulo - Brasil.

<sup>2</sup> Divisão de Vigilância Sanitária - Prefeitura Municipal de Limeira - Limeira - São Paulo - Brasil.

\* **Autora correspondente:** [angelasbarretto@gmail.com](mailto:angelasbarretto@gmail.com).

## 1 INTRODUÇÃO

O lançamento de efluentes, principalmente quando contém substâncias com caráter tóxico a organismos, pode afetar a biodiversidade do ecossistema aquático causando desequilíbrio por meio de alterações gradativas ou bruscas na qualidade da água, provocando mudanças no ciclo dos organismos e reduzindo o número de espécies ao longo do tempo.

Dentre as substâncias que apresentam caráter tóxico encontra-se o formaldeído, composto orgânico que apresenta alto fator de risco ambiental à saúde humana. Ele está presente no ambiente, em pequenas concentrações, e em diversos processos industriais: na produção de madeira, de resinas e de colas, sendo seu uso mais conhecido como conservante de cadáveres e peças anatômicas nos laboratórios de anatomia e nos salões de beleza para alisamento ou relaxamento capilar (ZOUTBERG & BEEN, 1997; ATSDR, 1999; MOUSSAVI et al., 2009).

A toxicidade do formaldeído é estudada em diversas áreas e, devido à exposição direta, a contaminação ocupacional em humanos apresenta um expressivo número de pesquisas. Com isso, há relatos de que além de causar danos nas vias respiratórias e pele, dentre outros, o formaldeído apresenta caráter genotóxico, podendo causar danos celulares e carcinogênicos, ou seja, possui potencial cancerígeno (LADEIRA, 2009).

O efluente gerado pelo uso do formaldeído causa preocupação, pois nos corpos d'água pode afetar seriamente o ecossistema local, visto que pequenas concentrações já provocam efeito tóxico considerado nos organismos (BRASIL, 2011). Lançado na rede coletora, pode trazer sérios problemas às estações de tratamento de esgoto devido ao choque provocado na biomassa presente nos sistemas de tratamento (LOTFY & RASHED, 2002).

Dessa forma, o presente estudo avaliou a toxicidade de um esgoto sanitário contendo formal-

deído, bem como o do efluente que recebeu tratamento por processos biológicos combinados (filtro anaeróbio seguido por biofiltro submerso aerado), utilizando *Giardia tigrina* para avaliar os possíveis impactos causados pelo lançamento deste efluente no ambiente.

### 1.1 *Giardia tigrina*

A espécie de água doce *Giardia tigrina* é uma planária pertencente à infra-Ordem Paludicola (Platyhelminthes: Tricladida). São platelmintos acelomados de vida livre, morfologicamente simples, possuem simetria bilateral, um metabolismo complexo, bem como os tecidos e órgãos especializados (PRÁ et al., 2005; SANT'ANNA, et al., 2007).

Com ampla distribuição geográfica, habitam rios, córregos de leito arenoso, pedregoso e correnteza rápida, lagos, lagoas, brejos, represas, tanques e aquários, em água limpa, turva ou estagnada rica em vegetação e matéria orgânica (FORNERIS, 1999).

Por serem saprófagas (decompositoras), as planárias têm função muito importante nos ecossistemas aquáticos, realizando a transformação dos nutrientes, que são devolvidos para o ambiente, fechando o ciclo (Barros et al., 2006).

As planárias são indicadas para ensaios de toxicidade devido à alta sensibilidade a substâncias químicas e agentes tóxicos, permitindo a avaliação dos efeitos por meio de vários biomarcadores. São utilizadas em diversos estudos toxicológicos de genotoxicidade, como carcinogênese, mutagênese e, pela alta taxa de proliferação celular e capacidade de regeneração, fazem do organismo adulto um organismo apropriado a ser utilizado em testes teratogênicos (BARROS et al., 2006; KNAKIEVICZ & FERREIRA, 2008; PRÁ et al., 2005; KNAKIEVICZ, 2014).

Em relação ao cultivo, planárias de água doce são de fácil criação e manutenção em laboratório, atributos que favorecem a sua utilização como organismo-teste (BARROS et al., 2006; HORVAT et al., 2005; KNAKIEVICS & FERREIRA, 2008; PRÁ et al., 2005).

Ensaio de toxicidade aguda com planárias de água doce utilizando a mortalidade como critério de avaliação não são muito difundidos, principalmente quando se referem a organismos jovens. Uma metodologia de avaliação que mostrou boa reprodutibilidade foi proposta por Preza e Smith (2001), que fez uso de organismos jovens com no máximo 10 dias de vida, após a eclosão, em ensaios de toxicidade aguda, expondo esses organismos a diversas concentrações de dicromato de potássio, avaliando a mortalidade. O estudo mostrou que ensaios nestas condições são viáveis, indicando que além de a espécie *G. tigrina* ser útil em ensaios de toxicidade padronizados, pode fornecer informações sobre a resposta de uma espécie regional ao impacto potencial ecológico.

Na Fig. 1 encontra-se a imagem da planária *G. tigrina* recém-eclodida do ovo.



**Figura 1** - *Girardia tigrina* (SANT'ANNA, et al., 2007)

## 2 OBJETIVO

Avaliar a toxicidade aguda presente em um efluente, contendo diversas concentrações de formaldeído (HCHO), nas várias etapas de um sistema combinado composto por filtro anaeróbico, biofiltro aerado e um decantador, utilizando um como bioindicador a espécie de planária de água doce *Girardia tigrina*.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 O sistema de tratamento

O sistema combinado de tratamento estudado é composto por um filtro anaeróbico (FA) e um biofiltro aerado (BAS) ambos em escala de bancada.

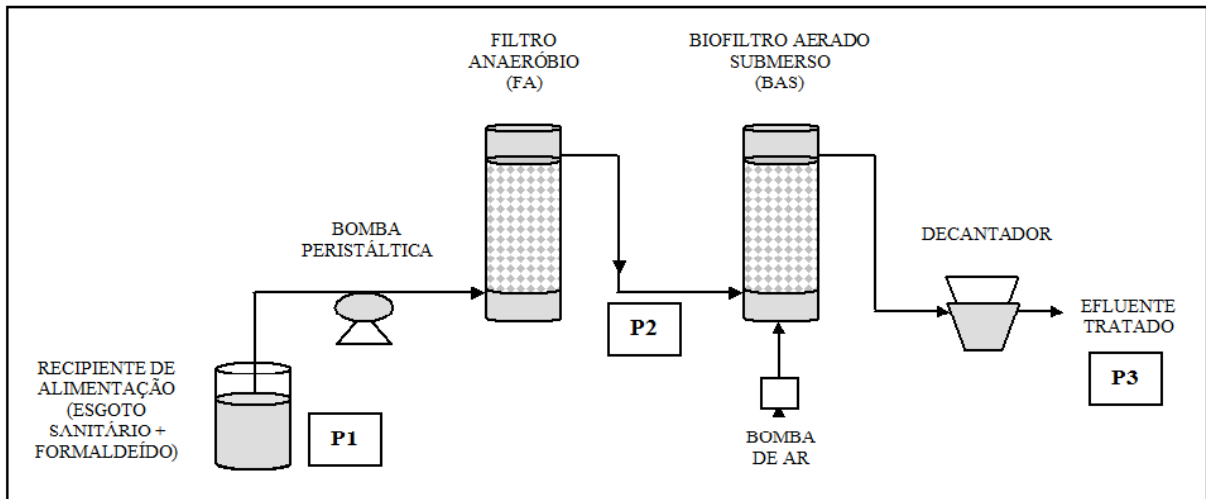
O efluente líquido utilizado neste estudo era constituído de esgoto sanitário após tratamento em nível primário em uma estação de tratamento de esgoto (Tabela 1), no qual foi adicionado formaldeído de modo a atingir as concentrações de 100, 200, 400 e 500 mg HCHO.L<sup>-1</sup>, estabelecidas para o estudo. Na Tabela 1 são apresentadas as características principais do esgoto sanitário.

**Tabela 1** - Principais características do esgoto sanitário utilizado neste trabalho.

Variável	MD	DP
Temperatura (C°)	24,0	1,5
Condutividade Elétrica (µS cm <sup>-1</sup> )	904,8	311,0
Dureza (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	67,5	8,5
pH	7,2	0,2
SST (mg L <sup>-1</sup> )	78,8	32,3
SSV (mg L <sup>-1</sup> )	63,3	27,5
SSF (mg L <sup>-1</sup> )	15,3	10,0
DQO (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	218	103
DBO (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	157	48
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	53,5	15,0

**Sendo:** MD: Média; DP: Desvio Padrão; SST: sólidos suspensos totais; SSV: sólidos suspensos voláteis; SSF: : sólidos suspensos fixos; DQO: demanda química de oxigênio; DBO: demanda bioquímica de oxigênio; NH<sub>3</sub>: nitrogênio amoniacal.

Na Fig. 2 é apresentado o sistema de tratamento com as unidades constituintes e seus respectivos pontos de amostragem. A unidade inicial é o reservatório de alimentação, Ponto 1 (P1), onde se encontra o esgoto sanitário mais formaldeído na concentração desejada, que foi bombeado ao filtro anaeróbico (FA). O efluente anaeróbico segue por gravidade para tratamento no biofiltro aerado submerso (BAS). Na saída do FA é realizada a coleta - Ponto 2 (P2). O Ponto 3 (P3) é constituído pelo efluente decantado do BAS e por isso a coleta é realizada na saída do decantador.



**Figura 2** - Sistema combinado de tratamento do esgoto contendo formaldeído.

O sistema foi operado com tempo de detenção hidráulica de 16 h, sendo 8 h para cada reator. Com isso, a vazão de operação da bomba peristáltica, que alimentava o sistema, era de  $49,0 \text{ mL min}^{-1}$  totalizando  $52,9 \text{ L dia}^{-1}$ . A cada hora a bomba peristáltica funcionava por 45 min e permanecia desligada por 15 min para minimizar o desgaste do equipamento. Esse controle do funcionamento da bomba foi feito com um temporizador.

As coletas das amostras foram realizadas nos pontos 1, 2 e 3, conforme indicado na Fig. 1, sendo respectivamente denominados de esgoto afluente bruto, efluente do filtro anaeróbico e efluente do decantador.

### 3.2 Etapas do trabalho

O estudo dividiu-se em quatro fases, determinadas pela adição de diferentes concentrações

de formaldeído no afluente sanitário (Tabela 2). Durante todo o período de estudo, o sistema de tratamento foi operado de forma contínua (fluxo contínuo de entrada e saída de efluente), onde a mudança de fases era realizada quando foi observada a estabilização nos valores das eficiências de remoção de DQO (demanda química de oxigênio) e DBO (demanda bioquímica de oxigênio), condições de equilíbrio dinâmico do sistema de tratamento.

O recipiente de alimentação do sistema (Fig. 2) era abastecido a cada 15 dias com a mistura de esgoto sanitário acrescido de formaldeído (qualidade analítica PA), formando o afluente bruto ao sistema de tratamento com a concentração desejada de HCHO (Tabela 2).

**Tabela 2** - Concentração média real de formaldeído (HCHO) em cada faixa de concentração aplicada.

Fases de operação	Dia de início de operação*	Duração da fase (dias)	HCHO Afluente Teórica ( $\text{mg L}^{-1}$ )	HCHO Afluente Aplicado ( $\text{mg L}^{-1}$ )	
				MD	DP
Fase 1	1	161	100	89,5	13,5
Fase 2	162	153	200	203,7	18,3
Fase 3	315	259	400	434,2	52,0
Fase 4	574	80	500	503,6	38,9
	Total	653			

**Sendo:** MD: Média; DP: Desvio Padrão; (\*): Início de aplicação de cada faixa da concentração de formaldeído

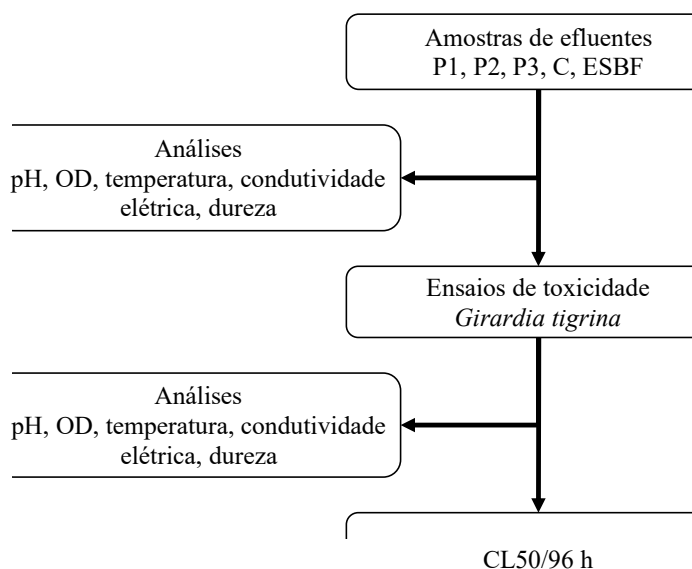
O intervalo entre os ensaios de toxicidade foi de aproximadamente 20 dias, estabelecido como sendo um período maior que aquele utilizado entre as coletas do esgoto sanitário bruto, que era a cada 15 dias. Esse procedimento visou evitar a realização de ensaios de toxicidade com esgotos de mesmas características e possibilitar uma avaliação do desempenho do sistema em condições próximas às encontradas em estações de tratamento em escala real.

Nos dias de realização dos ensaios de toxicidade foram feitos, no controle e nas soluções testes, o monitoramento inicial e final das seguintes variáveis: concentração de oxigênio dissolvido (OD),

temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica e dureza. Esse monitoramento teve como objetivo avaliar a interferência de alguma variável nos resultados de toxicidade obtidos já que, segundo Zagatto e Bertoletti (2006), esses são os principais fatores abióticos que podem interferir nesses resultados. As análises foram realizadas segundo APHA, AWWA, WEF (2012).

### 3.3 Ensaios de Toxicidade

Na Fig. 3 é apresentado um fluxograma de procedimento para a realização de cada ensaio de toxicidade.



**Figura 3** - Fluxograma de avaliação das amostras nos ensaios de toxicidade

As análises para quantificação de formaldeído seguiram o método do ácido cromotrópico (CASTAGNATO, 2006; GEORCHIOU & HO, 1989).

Foram analisadas as variáveis físicas e químicas para as amostras de esgoto bruto sem a adição de formaldeído (ESBF), como um branco do experimento, a fim de avaliar a possibilidade de o esgoto apresentar toxicidade natural.

Em todas as mudanças no valor da concentração de formaldeído adicionado no esgoto bruto, foram coletadas amostras do esgoto bruto sem formaldeído e dos três pontos amostrais logo em seguida a essa alteração e 16 horas após (tempo de detenção hidráulica do sistema). Nas 16 horas seguintes à aplicação, também foram realizados ensaios de toxicidade. Essa caracterização teve como objetivo

avaliar o impacto inicial provocado pela alteração na concentração de formaldeído ao sistema.

As análises dos resultados ecotoxicológicos foram realizadas por meio do programa Trimmed-Spearman Karber (HAMILTON et al., 1977).

A metodologia dos ensaios utilizando a espécie baseia-se no trabalho de Preza et al. (2001) com adaptações: uso de cinco organismos em vez de dez, uso de NaCl (cloreto de sódio) como substância de referência em vez de  $K_2Cr_2O_7$  (dicromato de potássio).

A água potável aerada foi utilizada como água de cultivo e empregada no preparo das diversas soluções com concentrações decrescentes do efluente contendo formaldeído e no controle.

Nos ensaios foram utilizadas planárias recém-nascidas (0 a 10 dias pós-eclosão). Os ensaios foram realizados em duplicata, sendo cinco organismos para cada réplica, em béqueres com capacidade de 100 mL com 50 mL das soluções do efluente contendo formaldeído. Durante o ensaio, os béqueres com os organismos foram mantidos sob iluminação natural, temperatura de  $24 \pm 2$  °C e sem alimentação.

As observações foram feitas a cada 24 h e após 96 h o ensaio foi finalizado. A contagem dos organismos foi feita visualmente. Por ter sistema nervoso definido, distribuído em toda a extensão do corpo e ser sensível a estímulos externos, foi utilizado um pincel fino de cerda macia para verificar a mortalidade do organismo. Foram considerados mortos os organismos estimulados com o pincel que, após 15 segundos de observação, permaneceram imóveis.

Com a obtenção da mortalidade dos organismos foram calculadas as concentrações médias que causaram a letalidade de 50% dos organismos expostos - CL50/96h.

As planárias obtidas para a realização dos ensaios são de cultivos próprios do Laboratório de Saneamento do Departamento de Saneamento e Ambiente da Faculdade de Engenharia Civil e Urbanismo da Unicamp (Fig. 4 e 5).



**Figura 4** - Aquários de cultivo de planárias



**Figura 5** - Lotes onde foram mantidos os filhotes das planárias.

Com objetivo de avaliar a saúde e resposta dos organismos na presença de uma substância referência e assim obter resultados com boa reprodutibilidade e reprodutibilidade, foram realizados ensaios de sensibilidade.

Esses ensaios foram realizados nas mesmas condições dos testes de toxicidade; no entanto, foi utilizado como substância de referência o cloreto de sódio (NaCl). O NaCl foi adotado por ser de fácil solubilidade, não ser volátil e principalmente por seu resíduo não ser tóxico ao ambiente.



#### 4 RESULTADO E DISCUSSÕES

Foram realizados 5 ensaios de sensibilidade com a substância NaCl para a espécie, e esta apresentou valores médios para CL 50/96h de  $5,7 \pm 0,5 \text{ g L}^{-1}$ .

O ensaio de toxicidade aguda expôs o organismo por um período de 96 h em amostras coletadas de esgoto bruto com formaldeído (P1), efluente tratado pelo FA (P2) e efluente tratado pelo BAS (P3) e posteriormente calculada a CL50/96h. Esses valores eram dependentes das características do esgoto bruto ao sistema, podendo variar entre uma coleta e outra.

Os resultados obtidos neste estudo não puderam ser relacionados a outras pesquisas

desenvolvidas anteriormente, pois até a finalização deste não existia em literatura trabalhos realizados com a espécie associada ao composto utilizado (formaldeído). Os estudos encontrados na literatura estão relacionados à utilização da espécie associada a compostos como herbicidas (López et al, 2019), inseticidas (Knakiewicz, 2014; Butturi-Gomes, 2016), compostos metálicos (Preza e Smith, 2001; Prá et al, 2005) e efluentes de refinaria de petróleo (Barros et al, 2006).

Os resultados de pH, OD, condutividade elétrica, dureza e formaldeído estão apresentados nas Tabelas 3 a 7.

**Tabela 3** - Valores médios ( $\pm$  DP) de pH medidos nas soluções testes, no início (0 h) e término (96 h) dos ensaios de toxicidade realizados com planária.

HCHO teórico (mg/L)	Número de testes	HCHO aplicado (mg/L)	P1		P2		P3		C		EBSF	
			0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h
100	4	89,5 $\pm$ 13,5	8,3 $\pm$ 0,3	8,3 $\pm$ 0,2	7,8 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,1	7,3 $\pm$ 0,3	7,6 $\pm$ 0,4	7,9 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,5	7,5 $\pm$ 0,1	8,1 $\pm$ 0,2
200	6	203,7 $\pm$ 18,3	7,9 $\pm$ 0,2	7,9 $\pm$ 0,3	7,7 $\pm$ 0,1	8,0 $\pm$ 0,2	7,4 $\pm$ 0,3	7,9 $\pm$ 0,2	7,6 $\pm$ 0,3	7,9 $\pm$ 0,1	7,7 $\pm$ 0,2	7,7 $\pm$ 0,2
400	7	434,2 $\pm$ 52,0	7,7 $\pm$ 0,2	7,6 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,2	7,9 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,6	7,8 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2	7,8 $\pm$ 0,1	8,0 $\pm$ 0,1
500	3	503,6 $\pm$ 38,9	7,7 $\pm$ 0,1	7,9 $\pm$ 0,1	7,5 $\pm$ 0,0	8,1 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,0	8,1 $\pm$ 0,2	7,9 $\pm$ 0,3	8,0 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,0

Sendo: HCHO: formaldeído; C: controle; EBSF: esgoto bruto sem adição de formaldeído

**Tabela 4** - Valores médios ( $\pm$  DP) da concentração de OD ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) medidos nas soluções testes, no início (0 h) e término (96 h) dos ensaios de toxicidade realizado com planária.

HCHO teórico (mg/L)	Número de testes	HCHO aplicado (mg/L)	P1		P2		P3		C		EBSF	
			0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h
100	4	89,5 $\pm$ 13,5	6,7 $\pm$ 0,2	6,7 $\pm$ 0,7	6,9 $\pm$ 0,3	7,1 $\pm$ 0,3	6,8 $\pm$ 0,4	7,0 $\pm$ 0,5	7,1 $\pm$ 0,4	7,5 $\pm$ 0,3	6,7 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,1
200	6	203,7 $\pm$ 18,3	7,3 $\pm$ 0,4	6,5 $\pm$ 0,7	7,2 $\pm$ 0,4	7,1 $\pm$ 0,3	6,5 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,2	7,5 $\pm$ 0,5	7,4 $\pm$ 0,2	6,9 $\pm$ 0,7	7,0 $\pm$ 0,3
400	7	434,2 $\pm$ 52,0	7,6 $\pm$ 0,1	6,9 $\pm$ 0,4	6,9 $\pm$ 0,7	6,8 $\pm$ 0,5	6,9 $\pm$ 0,5	6,6 $\pm$ 0,7	7,6 $\pm$ 0,3	7,1 $\pm$ 0,4	7,4 $\pm$ 0,3	6,9 $\pm$ 0,4
500	3	503,6 $\pm$ 38,9	7,4 $\pm$ 0,3	7,4 $\pm$ 0,4	7,3 $\pm$ 0,4	7,1 $\pm$ 0,7	7,2 $\pm$ 0,7	6,7 $\pm$ 0,7	7,8 $\pm$ 0,0	8,0 $\pm$ 0,8	7,7 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,8

Sendo: HCHO: formaldeído; C: controle; EBSF: esgoto bruto sem adição de formaldeído

**Tabela 5** - Valores médios ( $\pm$  DP) da Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) medidos nas soluções testes, no início (0 h) e término (96 h) dos ensaios de toxicidade realizados com planária.

HCHO teórico (mg/L)	Número de testes	HCHO aplicado (mg/L)	P1		P2		P3		C		EBSF	
			0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h
100	4	89,5 $\pm$ 13,5	398,8 $\pm$ 28,7	399,9 $\pm$ 75,3	428,2 $\pm$ 62,2	425,4 $\pm$ 107,0	753,0 $\pm$ 141,8	670,0 $\pm$ 156,4	252,3 $\pm$ 8,0	284,5 $\pm$ 7,6	377,3 $\pm$ 21,2	385,0 $\pm$ 8,2
200	6	203,7 $\pm$ 18,3	279,2 $\pm$ 10,2	281,3 $\pm$ 10,0	313,6 $\pm$ 23,1	305,9 $\pm$ 19,8	711,7 $\pm$ 69,2	710,5 $\pm$ 56,0	192,0 $\pm$ 22,0	234,6 $\pm$ 39,2	294,9 $\pm$ 23,6	264,9 $\pm$ 28,3
400	7	434,2 $\pm$ 52,0	278,9 $\pm$ 17,9	282,9 $\pm$ 23,2	347,0 $\pm$ 41,8	344,2 $\pm$ 33,6	560,6 $\pm$ 79,8	564,6 $\pm$ 64,9	254,8 $\pm$ 19,9	271,2 $\pm$ 27,6	286,3 $\pm$ 21,3	289,5 $\pm$ 20,6
500	3	503,6 $\pm$ 38,9	268,0 $\pm$ 43,0	274,5 $\pm$ 43,5	340,0 $\pm$ 27,0	339,5 $\pm$ 305,0	509,7 $\pm$ 81,7	501,3 $\pm$ 72,0	246,5 $\pm$ 43,5	262,0 $\pm$ 36,0	267,0 $\pm$ 36,0	281,5 $\pm$ 37,5

Sendo: HCHO: formaldeído; C: controle; EBSF: esgoto bruto sem adição de formaldeído

**Tabela 6** - Valores médios ( $\pm$  DP) da Dureza ( $\text{mg CaCO}_3 \text{L}^{-1}$ ) medidos nas soluções testes, no início (0 h) e término (96 h) dos ensaios de toxicidade realizados com planária.

HCHO teórico (mg/L)	Número de testes	HCHO aplicado (mg/L)	P1		P2		P3		C		EBSF	
			0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h
100	4	89,5 $\pm$ 13,5	69,2 $\pm$ 1,0	71,3 $\pm$ 3,2	71,0 $\pm$ 2,4	72,2 $\pm$ 3,8	69,0 $\pm$ 4,1	70,6 $\pm$ 3,8	71,3 $\pm$ 0,9	73,0 $\pm$ 1,9	70,3 $\pm$ 1,7	70,0 $\pm$ 1,4
200	6	203,7 $\pm$ 18,3	63,4 $\pm$ 8,2	65,0 $\pm$ 7,0	61,3 $\pm$ 8,7	62,7 $\pm$ 8,0	62,0 $\pm$ 4,8	63,7 $\pm$ 5,1	53,5 $\pm$ 7,7	62,6 $\pm$ 9,2	62,1 $\pm$ 8,5	62,7 $\pm$ 8,9
400	7	434,2 $\pm$ 52,0	71,3 $\pm$ 5,5	73,7 $\pm$ 5,2	72,3 $\pm$ 5,2	74,1 $\pm$ 5,2	79,0 $\pm$ 12,6	81,2 $\pm$ 12,6	71,8 $\pm$ 6,0	75,3 $\pm$ 7,5	71,2 $\pm$ 4,4	72,0 $\pm$ 4,4
500	3	503,6 $\pm$ 38,9	61,0 $\pm$ 13,0	62,5 $\pm$ 14,5	65,0 $\pm$ 11,0	63,0 $\pm$ 13,0	59,0 $\pm$ 6,5	60,0 $\pm$ 7,8	64,5 $\pm$ 13,5	60,0 $\pm$ 11,0	60,0 $\pm$ 12,0	61,0 $\pm$ 13,0

Sendo: HCHO: formaldeído; C: controle; EBSF: esgoto bruto sem adição de formaldeído

**Tabela 7** - Valores médios ( $\pm$  DP) da concentração de formaldeído residual ( $\text{mg L}^{-1}$ ) medidos nas soluções testes, no início (0 h) e término (96 h) dos ensaios de toxicidade realizados com planária.

HCHO teórico (mg/L)	Número de testes	HCHO aplicado (mg/L)	P1		P2		P3		C		EBSF	
			0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h	0 h	96 h
100	4	89,5 $\pm$ 13,5	18,1 $\pm$ 5,9	0,2 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
200	6	203,7 $\pm$ 18,3	16,5 $\pm$ 3,3	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
400	7	434,2 $\pm$ 52,0	14,1 $\pm$ 1,7	0,3 $\pm$ 0,1	6,7 $\pm$ 7,9	0,4 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,4	0,1 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,0	0,2 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0
500	3	503,6 $\pm$ 38,9	13,7 $\pm$ 2,2	0,4 $\pm$ 0,1	6,0 $\pm$ 5,1	0,4 $\pm$ 0,4	1,5 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0 $\pm$ 0,0

Sendo: HCHO: formaldeído; C: controle; EBSF: esgoto bruto sem adição de formaldeído

Os resultados das variáveis físicas e químicas no início (0 h) e fim (96 h) dos ensaios na fase 1 (concentração de 100 mg HCHO L<sup>-1</sup>) não apresentaram alterações significativas e mantiveram-se dentro dos níveis para manutenção dos organismos, indicando que esses valores não exerceram influência significativa na toxicidade. A concentração de formaldeído foi a única a apresentar grande diferença entre o inicial e final, porém isso ocorreu provavelmente devido à sua volati-

lização e reação com os compostos presentes no esgoto (NOUR et al, 2014).

Para a concentração de 200 mg HCHO L<sup>-1</sup> (fase 2), os resultados das variáveis físicas e químicas também não apresentaram alterações significativas que poderiam causar toxicidade, entretanto foi registrado elevado valor de condutividade elétrica no efluente do BAS, que no entanto não afetou o organismos teste.



As variáveis físicas e químicas analisadas apresentaram o mesmo comportamento para a fase 3 (concentração de 400 mg HCHO L<sup>-1</sup>) que foi observado nos dois monitoramentos anteriores.

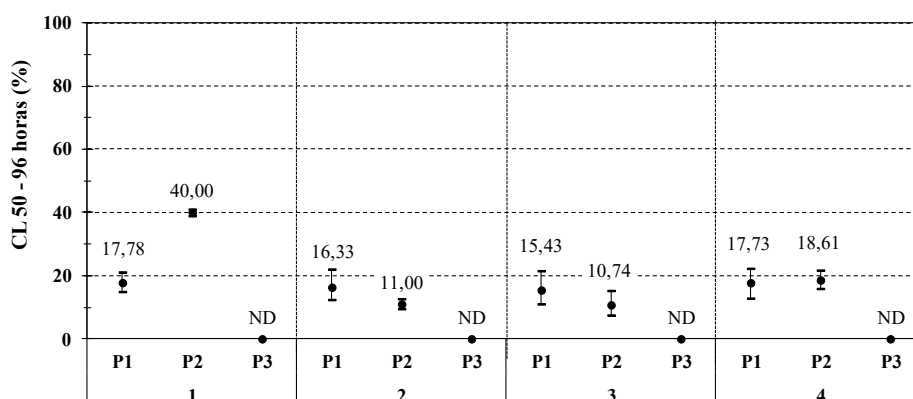
Na fase 4 (concentração de 500 mg HCHO L<sup>-1</sup>) foram realizados apenas três ensaios de toxicidade com objetivo de avaliar se o aumento no valor da concentração de formaldeído poderia causar aumento mais expressivo na toxicidade, como já observado na fase 2, e se o sistema manteria o mesmo desempenho.

As variáveis analisadas na fase 4 mantiveram o mesmo comportamento, com exceção da concentração de formaldeído. A concentração de formal-

deído inicial foi maior nos Pontos de amostragem, em comparação com as fases posteriores. A concentração máxima na análise final de formaldeído foi de 0,5 mg HCHO L<sup>-1</sup> no Ponto 1, 0,9 mg HCHO L<sup>-1</sup> no Ponto 2 e 1,4 mg HCHO L<sup>-1</sup> no Ponto 3.

A seguir estão apresentados nas Fig. 6 a 8 os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade para a espécie nas quatro fases avaliadas. Em cada uma das figuras são apresentados os valores médios e desvio padrões de CL50/96 horas (em %) obtidos, para concentração de formaldeído presente no esgoto sanitário (100, 200 e 400 mg HCHO L<sup>-1</sup>), em cada ensaio de toxicidade realizado, para cada ponto de monitoramento do sistema de tratamento.

#### 4.1 Concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído



**Figura 6** - Resultados obtidos para a concentração de 100 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído (o ponto central indica o valor médio e as barras indicam o desvio padrão) para 4 ensaios de toxicidade. ND: não detectada toxicidade.

Os resultados obtidos no Ponto 1 indicam a elevada toxicidade provocada pelo formaldeído, cuja concentração letal a 50% dos organismos manteve-se abaixo de 20%. A espécie *G. tigrina* mostrou-se sensível ao esgoto bruto contendo formaldeído.

Os resultados obtidos para o Ponto 2 foram semelhantes aos obtidos para o Ponto 1; neste caso o efeito letal foi até um pouco maior; entretanto, como foram realizadas análises de amônia, pode-se observar que os altos valores desta foram

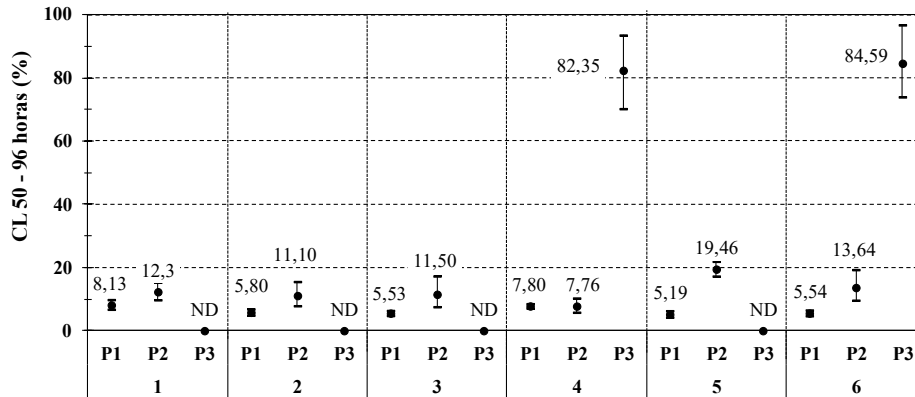
os responsáveis pela alta toxicidade para a espécie (SANTOS, 2011).

No Ponto 3 não foi observada toxicidade aguda na exposição ao organismo sob as condições de estudo, demonstrando a alta capacidade do BAS na redução da concentração de formaldeído e, conseqüentemente, da toxicidade. A concentração de formaldeído para este ponto foi de 0,1 ± 0,1 mg L<sup>-1</sup>, com eficiência de redução de 99,9 ± 0,1%.

Nas condições de estudo, nesta concentração, observa-se que a espécie *G. tigrina* demonstra ser um orga-

nismo viável para ensaios de toxicidade aguda na avaliação dos efeitos do formaldeído aplicado ao esgoto.

#### 4.2 Concentração de 200 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído

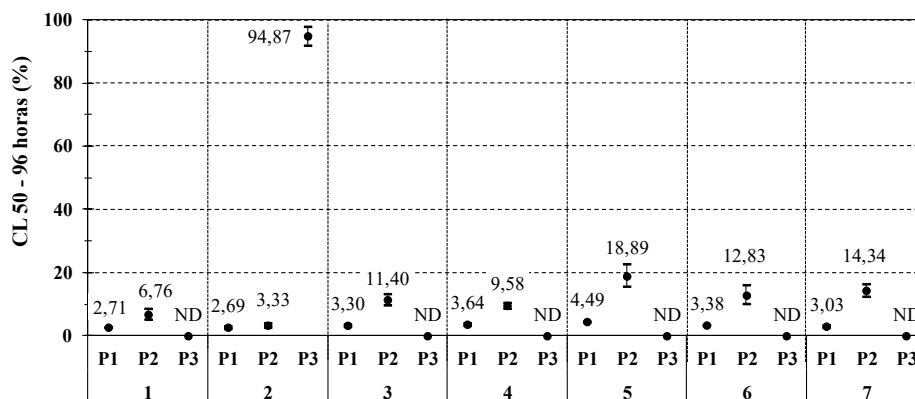


**Figura 7** - Resultados obtidos para a concentração de 200 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído. (o ponto central indica o valor médio e as barras indicam o desvio padrão) para 6 ensaios de toxicidade. ND: não detectada toxicidade.

O Ponto 1 demonstrou, pelos resultados obtidos, alta toxicidade provocada pelo formaldeído à *G. tigrina*, cuja concentração letal a 50% dos organismos manteve-se abaixo de 9%. O efluente do Ponto 2 apresentou elevada toxicidade, já que os valores obtidos para CL50/96h ficaram sempre abaixo de 20%. Mesmo com o aumento da toxicidade no Ponto 2, o Ponto 3 manteve a

eficiência, conferindo à maioria dos resultados de CL50/96h ausência de toxicidade aguda, sendo observada toxicidade leve no quarto e sexto ensaios (CL 50-96h de 82,35 e 84,59, respectivamente). A concentração de formaldeído para o ponto P3 foi de 0,1 ± 0,1 mg L<sup>-1</sup>, com eficiência de redução de 99,9 ± 0,1%.

#### 4.3 Concentração de 400 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído



**Figura 8** - Resultados obtidos para a concentração de 400 mg L<sup>-1</sup> de formaldeído (o ponto central indica o valor médio e as barras indicam o desvio padrão) para 7 ensaios de toxicidade. ND: não detectada toxicidade.

Pode ser observado na Fig. 8 que o Ponto 1 também apresentou elevada toxicidade para *G. tigrina*, com a média da CL50/96h abaixo de 5%. A toxicidade no P2 também foi elevada e a recuperação no desempenho observada na resposta dos organismos nessa mesma fase também foi observada, porém foi menos expressiva, com as médias da CL50/96h abaixo de 19%.

O P3 não foi tóxico para a maioria dos ensaios realizados nesta fase, apresentando toxicidade de pouco significativa apenas no ensaio 2 (CL50-96h de 94,87), que pode ser devido à adaptação do BAS a nova concentração de estudo. A concentração de formaldeído para este ponto foi de  $0,7 \pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ , com eficiência de redução de  $99,8 \pm 0,3\%$ .

#### 4.4 Concentração de $500 \text{ mg L}^{-1}$ de formaldeído

No primeiro ensaio no P1 ocorreu 100% de letalidade dos organismos na menor concentração utilizada, 2%, por isso neste ensaio esse ponto foi considerado tóxico. Já no segundo ensaio para essa mesma concentração de  $500 \text{ mg L}^{-1}$  a toxicidade foi ligeiramente menor, porém ainda alta, visto que a CL50 foi menor que 3%.

No P2, devido à instabilidade observada no sistema pela avaliação de outras variáveis físicas e químicas, foi obtido apenas um resultado válido indicando elevada toxicidade, com a CL50 menor que 4%.

Os resultados obtidos para o P3 indicaram que a toxicidade foi maior em relação aos ensaios realizados nas fases anteriores. Entretanto observou-se um aumento gradual nos resultados obtidos nesta quarta fase de estudo, provavelmente devido ao aumento da concentração de formaldeído no afluente do BAS, que não foi totalmente reduzida devido principalmente à não adaptação da biomassa às novas condições de operação, sendo detectado formaldeído no efluente cole-

tado na saída do sistema (após decantação). A concentração de formaldeído para este ponto foi de  $3,8 \pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ , com eficiência de redução de  $99,2 \pm 0,3\%$ . Entretanto, pode-se inferir pelos resultados obtidos no último ensaio realizado que o sistema estava apresentando o início da retomada do equilíbrio dinâmico quanto ao comportamento das variáveis físicas e químicas.

## 5 CONCLUSÃO

A espécie estudada indicou ser um organismo-teste adequado a estudo de toxicidade de esgoto sanitário contendo formaldeído tratado pelo sistema combinado estudado. Pelos resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda, conclui-se que a metodologia utilizada no ensaio de toxicidade aguda é viável.

O afluente bruto contendo formaldeído, P1, foi altamente tóxico, indicando a necessidade de tratamento eficiente para descarte.

A toxicidade foi reduzida ao longo do sistema, e mesmo que o efluente do FA tenha apresentado toxicidade, esta foi reduzida no BAS, verificando-se, assim, a importância da combinação de ambos os processos anaeróbio e aeróbio para tratamento de esgoto sanitário contendo formaldeído, de acordo com as condições operacionais utilizadas no presente trabalho.

O sistema combinado na configuração utilizada neste estudo foi considerado adequado para a redução de toxicidade até a concentração de  $400 \text{ mg HCHO L}^{-1}$ .

O período de 80 dias não foi suficiente para avaliar a adaptação do sistema após a adição da concentração de  $500 \text{ mg HCHO L}^{-1}$  (Fase 4), sendo necessário um período maior de monitoramento visando verificar se há redução da toxicidade com a adaptação das biomassas presentes nos reatores FA e BAS.

Nas concentrações de 100, 200 e 400 mg HCHO L<sup>-1</sup>, o efluente do sistema apresentou toxicidade aguda pouco significativa para a espécie no efluente tratado pelo sistema. Na fase 4 (500 mg HCHO L<sup>-1</sup>), o efluente bruto foi significativamente tóxico para a espécie no período avaliado.

A espécie demonstrou ser sensível ao efluente nas condições de operação do sistema de tratamento em todo o período de estudo.

A utilização de esgoto sanitário, um efluente não preparado em laboratório, permitiu que os resultados obtidos pudessem melhor simular o comportamento de sistemas de tratamento que venham a receber efluentes sanitários contendo concentrações significativas de formaldeído, verificando o residual de toxicidade existente por meio de avaliação ecotoxicológica.

## 6 CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram de forma igualitária.

## 7 REFERÊNCIAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY – ATSDR. **Toxicological Profile for Formaldehyde (Final Report)**. NTIS Accession No. PB99-166654. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. p. 451, 1999.

APHA, AWWA, WEF – American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th ed., Washington D.C., 2012.

BARROS, G.S., ANGELIS, D.F., FURLAN, L.T., CORRÊA-JUNIOR, B. Utilização de Planárias da Espécie Dugésia (*Girardia tigrina*) em Testes de Toxicidade de Efluentes de Refinaria de Petróleo. **Journal of Brazilian Society Ecotoxicology**, Curitiba, v. 1, n. 1, p. 67-70, 2006. <https://doi.org/10.5132/jbse.2006.01.014>

BRASIL – Ministério do Meio Ambiente - MMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA - Resolução nº 430 – 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. De 13 de maio de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, 16 de maio de 2011a, 8 p.

BUTTURI-GOMES, D.; FURQUIM, K.C.S.; CARMARGO-MATIAS, M.I.; MARIN-MORALES, M.A. Morpho-histochemistry analysis of freshwater planarians *Girardia tigrina* (Girard, 1850) exposed to sublethal concentrations of Malathion insecticide. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v. 11, n. 1, 33-43, 2016. <https://doi.org/10.5132/eec.2016.01.06>

CASTAGNATO, R. **Tratabilidade de esgoto sanitário contendo formaldeído em um sistema combinado filtro anaeróbico – biofiltro aerado submerso**. 2006. 156 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo). Universidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil. 2006.

FORNERIS, L. Platelminhos Turbelários. In: JOLY, C.A.; BICUDO, C.E.M. (Org.). **Biodiversidade do estado de São Paulo. Síntese do conhecimento ao final do século XX. Invertebrados de Água Doce**. FAPESP, São Paulo, v. 4, p. 18-23, 1999.

GEORGHIOU, P. E.; HO, C.K. The Chemistry of cromotropic acid method for the analyses of formaldehyde. **Canadian Journal of Chemistry**, v.67,p.871-876, 2011. <https://doi.org/10.1139/v89-135>

HAMILTON, M., RUSSO, R.C. & THURSTON, R.V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ. Sci. Technol.**, 11:714-719, 1977. <http://dx.doi.org/10.1021/es60130a004>

HORVAT, T., KALAFATIC, M., KOPJAR,N., KOVACEVIC, G. Toxicity testing of herbicide norflurazon on an aquatic bioindicator species-the planarian *Polycelis felix* (Daly). **Aquatic Toxicology**, v.73, p. 342-352, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.03.023>

KNAKIEVICZ, T., FERREIRA, H. B. Evaluation of copper effects upon *Girardia tigrina* freshwater planarians based on a set of biomarkers. **Chemosphere**, Oxford, v. 71, p. 419-428, 2008. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.11.004

KNAKIEVICZ, T. Planarians as invertebrate bioindicators in freshwater environmental quality: The bio markers approach. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 9, n.1, p.1-12, 2014. <https://doi.org/10.5132/eec.2014.01.001>

LADEIRA, C. A. F.. **Biomarcadores genotóxicos e polimorfismos genéticos em trabalhadores expostos a formaldeído**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de Lisboa e Professor Doutor Rui Miguel Brito, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa.

LOTFY, H.R.; RASHED, I.G. A method for treating wastewater containing formaldehyde. **Water Research**, v. 36, n. 3, p. 633-637, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00255-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00255-X)

LÓPEZ, A. M. C.; SARMENTO, R. A.; SARAIVA, A. S.; PEREIRA, R. R.; SOARES, A. M. V. M.; PESTANA, J. L. T. Exposure to Roundup® affects behavior, head regeneration and reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina*. **Science of the Total**

**Environment**, v. 675, 453–461, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.234>

MOUSSAVI, G.; MAHMOUDI, M.; BARIKBIN, B. Biological removal of phenol from strong wastewaters using a novel MSBR, **Water Research**, v. 43, n. 5, p. 1295–1302, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.12.026>

NOUR, E.A.A.; CANDELLO, F.P.; SANTOS, E.M.R.; BARRETTO, A.S.; DOMINGUES, L.M. Tratamento biológico de formaldeído: toxicidade residual monitorada por bioensaios com *Daphnia similis*, **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 09, n. 1, 77–85, 2014. <https://doi.org/10.5132/eec.2014.01.010>

PRÁ, D.; LAU, A.H., KNAKIEVICZ, T., CARNEIRO, F.R., ERDTMANN, B. Environmental genotoxicity assessment of an urban stream using freshwater planarians. **Mutation Research**, v. 585, n. 1–2, p. 79–85, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.04.002>

PREZA, D.L.C., SMITH, D.H. Use of newborn *Girardia tigrina* (Girard, 1950) in acute toxicity tests. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 50, p. 1–3, 2001. <https://doi.org/10.1006/eesa.2001.2072>

SANT’ANNA, G. S.; WİLLAND, E. F.; SCHRÖDER, N. T.; LACERDA, .A. S.; ALVES, C. R.; SILVA, D. C. Biologia reprodutiva de *Girardia tigrina* (platyhelminthes, tricladida, paludicola) em laboratório. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 2, n. 2 p. 22–27, 2007. <http://periodicos.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/72/32>

SANTOS, E. M. R. **Sistema combinado tratando esgoto sanitário contendo formaldeído: toxicidade remanescente avaliada em diferentes níveis tróficos** 2011, 178 p., Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil. 2011.

ZAGATTO, P.A., BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática – Princípios e aplicações**. São Carlos, RIMA, 478 p. 2006.

ZOUTBERG, G.R.; DE BEEN, P. The Biobed® EGSB (expanded granular sludge bed) system covers shortcomings of the up flow anaerobic sludge blanket reactor in the chemical industry. **Water Science and Technology**, v. 35, n. 10, p. 183–188, 1997. <https://doi.org/10.2166/wst.1997.0381>