

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu*  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL

THAISE CAMARGO DA SILVA

UTILIZAÇÃO DE *Allium cepa* NA AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ESGOTO  
SANITÁRIO EM DIFERENTES ETAPAS DO TRATAMENTO

PONTA GROSSA

2021

THAISE CAMARGO DA SILVA

UTILIZAÇÃO DE *Allium cepa* NA AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ESGOTO  
SANITÁRIO EM DIFERENTES ETAPAS DO TRATAMENTO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Ponta Grossa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental, área de concentração em Tratamento de Água de Abastecimento e Águas Residuárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Barana

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliane Carvalho de Vasconcelos

PONTA GROSSA

2021

Silva, Thaise Camargo da  
5586 Utilização de *Allium cepa* na avaliação ecotoxicológica de esgoto sanitário em diferentes etapas do tratamento / Thaise Camargo da Silva. Ponta Grossa, 2021.  
79 f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental - Área de Concentração: Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Barana.  
Coorientadora: Profa. Dra. Eliane Carvalho de Vasconcelos.

1. Bioensaios. 2. Cebola. 3. Esgoto sanitário. 4. Toxicidade. 5. Águas residuárias. I. Barana, Ana Cláudia. II. Vasconcelos, Eliane Carvalho de. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Saneamento Ambiental e Recursos Hídricos. IV.T.

CDD: 628.4



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO - DEFESA DE MESTRADO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL**

Certificado nº 03/2021 PPGESA

Título da Dissertação: “**UTILIZAÇÃO DE *ALLIUM CEPA* NA AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE ESGOTO SANITÁRIO EM DIFERENTES ETAPAS DO TRATAMENTO**”.

Nome: **THAÍSE CAMARGO DA SILVA**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Cláudia Barana

Aprovada pela Comissão Examinadora:

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Cláudia Barana

UEPG/Ponta Grossa - PR

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Bárbara Zaninotti Leite Ross

SANEPAR/Curitiba - PR

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Kelly Geronazzo Martins

UNICENTRO/Irati - PR

Ponta Grossa, 13 de setembro de 2021.



Documento assinado eletronicamente por **kelly geronazzo martins, Usuário Externo**, em 13/09/2021, às 17:39, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Bárbara Zaninotti Leite Ross, Usuário Externo**, em 27/09/2021, às 08:13, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Ana Claudia Barana, Professor(a)**, em 21/10/2021, às 16:55, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **0606717** e o código CRC **C583BBE8**.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus, meu suporte de vida, que me deu muita força e que não me desamparou, principalmente, nos momentos de angustia.

Agradeço imensamente à minha mãe, Márcia, meu pai Claudiomiro e meu irmão André, por nunca me deixarem sozinha, mesmo nos momentos em que estamos longe. Agradeço pelo esforço que fizeram para que não me faltasse nada nos estudos, desde o início do mestrado até agora. Aos meus avós que nunca me faltaram com suas orações, minha madrinha, tios e tias que sempre buscaram me ajudar e me incentivar, primos, primas e afilhados Luiz Felipe e Isabella, a pequena que foi e é a minha alegria nos dias cinzas. À toda minha família, meu muito obrigada!

Aos meus amigos, que não me deixaram desistir, que sempre torceram por mim e se colocaram à minha disposição nos momentos que precisei, quero que saibam que, sem vocês, muito não seria possível. Vocês são incríveis e os admiro demais!

À minha equipe da Polícia Científica, IML Ivaiporã, que é a minha família há um ano, me compreendendo sempre que precisei e me incentivando a seguir.

A todos do Laboratório de Estudos em Meio Ambiente, que me ajudaram, desde a coleta de amostras até as análises, que sempre sanaram minhas dúvidas quando tive, gratidão a vocês.

À Denise, que foi meu auxílio quando precisei e que, por muitas vezes, foi a minha companheira de laboratório durante a pandemia. Obrigada Dê!

À minha orientadora, Prof. Dra. Ana Cláudia, por todo o suporte que me proporcionou, às idas às ETES quando não pude, explicações de falas calmas, compreensão, paciência, puxões de orelha, companheirismo nos momentos difíceis e receosos, principalmente quando demos continuidade às idas ao laboratório. Eu te admiro e agradeço de todo o meu coração.

À minha co-orientadora, Prof. Dra. Eliane Carvalho de Vasconcelos, que me permitiu estar no seu local de trabalho para aprender e se dispôs a ensinar, mesmo à distância. Obrigada!

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao PPGESA e ao departamento de Engenharia de Alimentos, que me acolheu. À toda equipe da UEPG, limpeza, segurança e todos os funcionários que sempre cuidam de tudo para nós.

À banca por ter aceito o convite de contribuir com este trabalho.

À Capes, pela bolsa concedida.

## RESUMO

Uma preocupação com relação ao tratamento de águas residuárias é a qualidade com que esta retorna ao meio ambiente. A toxicidade da água pode afetar diretamente o processo de divisão celular dos seres vivos, fazendo com que ocorram anomalias e alterações cromossômicas, bem como outros problemas citados neste estudo. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficácia na redução da toxicidade de duas estações de tratamento de esgoto (ETEs) localizadas no Estado do Paraná: uma ETE que opera com tratamento biológico anaeróbio via reator e filtros anaeróbios, aqui denominada de ETE ANA, e outra onde o processo de tratamento biológico é aeróbio e se dá por lodos ativados, ETE LA. O organismo teste vegetal utilizado para verificar índices de toxicidade, dividido em genotoxicidade, mutagenicidade e citotoxicidade dessas ETEs, foi o *Allium cepa*. Constatou-se que o afluente de ambas as ETEs apresentaram indicativos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos semelhantes ao controle positivo, feito com o herbicida Trifuralina. Em ambas as ETEs os efluentes tratados atenderam aos padrões de lançamento de DQO, NTK e  $\text{N-NH}_4$  exigidos pela legislação vigente. Identificou-se que o efluente da ETE LA não é considerado citotóxico, genotóxico ou mutagênico, apresentando um índice mitótico (IM) de 11,5%, aberrações cromossômicas em torno de 0,3% e ausência de células com micronúcleos, resultados estatisticamente iguais ao tratamento controle feito com água. A ETE ANA também apresentou eficiência quanto à redução da toxicidade ao longo dos processos, sendo as amostras com algum tratamento as que apresentaram melhores resultados quanto aos índices de toxicidade. Também foi realizado teste de ecotoxicidade com amostra da espuma coletada no reator anaeróbio da ETE ANA e observou-se inibição total do crescimento da raiz, o que significa elevada toxicidade. Já a espuma diluída 100 vezes não apresentou potencial citotóxico, com IM de 10,4%, mas apresentou capacidade genotóxica, de 1,0%, e mutagênica, de 0,4%, não apresentando diferença estatística ao controle positivo. Foram realizados os mesmos ensaios de ecotoxicidade utilizando-se meios preparados com  $40 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NH}_4\text{Cl}$  e  $2,0 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NaNO}_3$  onde o crescimento da raiz não foi afetado, porém ambas as substâncias se apresentaram genotóxicas para células de *Allium cepa*.

**Palavras-chave:** Bioensaios. Cebola. Esgoto sanitário. Toxicidade. Águas residuárias.

## ABSTRACT

A worrying problem regarding the wastewater treatment is the quality with which it returns to the environment. The water's toxicity can directly affect the process of cell division in living beings, causing chromosomal abnormalities and alterations to occur, as well as other problems mentioned in this study. Thus, this research aimed to evaluate the effectiveness in reducing the toxicity of two sewage treatment plants (ETE) located in the State of Paraná: an ETE that operates with anaerobic biological treatment, here called ETE ANA, and another where the biological treatment process through activated sludge, the ETE LA. The plant test organism used to verify toxicity indices, divided into genotoxicity, mutagenicity and cytotoxicity of these ETEs was *Allium cepa*. It was found that the affluent of both ETEs had cytotoxic, genotoxic and mutagenic indicators equal to the positive control, made with the herbicide Trifluralin. In both ETEs, the treated effluents met the release standards for COD, NTK and  $\text{N-NH}_4$  required by current legislation. It was identified that the ETE LA effluent isn't considered cytotoxic, genotoxic or mutagenic, presenting a mitotic index (MI) of 11.5%, chromosomal aberrations around 0.3% and absence of cells with micronuclei, statistically equal results to the control treatment, made with water. ETE ANA also showed efficiency in reducing toxicity throughout the processes, with samples with some treatment showing the best results in terms of toxicity indices. An ecotoxicity test was also carried out with a sample of the scum collected in the anaerobic biodigester of the ETE ANA and it was observed total inhibition of root growth, which means high toxicity. The 100-fold diluted scum did not present cytotoxic potential, with an IM of 10.4%, but presented a genotoxic capacity of 1.0% and a mutagenic capacity of 0.4%, with no statistical difference from the positive control. The same assays were performed with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  and  $\text{NaNO}_3$  where root growth wasn't affected, but potentiated, and both substances were found to be genotoxic to *Allium cepa* cells.

**Keywords:** Bioassays. Onion. Sanitary sewage. Toxicity. Wastewater.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema da digestão anaeróbia.....	16
Figura 2 – Etapas do ciclo celular.....	19
Figura 3 – Esquema simplificado das etapas do ciclo celular.....	20
Figura 4 – Fases da divisão celular, fase M.....	22
Figura 5 – Cariótipo de <i>A. cepa</i> , com cada par representado por um número.....	23
Figura 6 – Fluxograma de amostragem ETE ANA .....	26
Figura 7 – Fluxograma de amostragem ETE LA .....	26
Figura 8 – Foto das cebolas ( <i>Allium cepa</i> ) em contato com as amostras.....	30
Figura 9 – Foto das raízes corando na solução de Schiff.....	32
Figura 10 – Foto da raiz na lâmina para microscopia.....	32
Figura 11 – Gráfico da DQO e crescimento médio das raízes da ETE LA.....	39
Figura 12 – Raízes dos controles positivo (A), com Trifuralina, e negativo (B), com água.....	41
Figura 13 – Foto das raízes dos bulbos nos ensaios realizados com amostras da ETE LA: 1B – Desarenador, 2B – Tanque de aeração e 3B – Decantador secundário.....	43
Figura 14 – Foto das raízes dos bulbos nos ensaios realizados com amostras da ETE ANA: 1A–Desarenador, 2A–Efluente do RALF e 3A–Efluente do filtro.....	44
Figura 15 – Foto dos bulbos que foram expostos à espuma sem diluição (A), diluída 100x (B), controle positivo (C) e controle negativo (D) .....	46
Figura 16 – Fotos dos Bulbos que foram expostos à solução de cloreto de amônio (A), nitrato de sódio (B), controle positivo (C) e controle negativo (D) .....	48
Figura 17 – Gráfico box plot para % de IM das ETes LA (A) e ANA (B) .....	51
Figura 18 - Gráfico box plot para % de IAC das ETes LA (A) e ANA (B) .....	53
Figura 19 - Gráfico box plot para % de mutagenicidade das ETes LA (A) e ANA (B)...	55
Figura 20 - Gráfico box plot para % de índice mitótico (A), índice de aberrações cromossômicas (B) e mutagenicidade (C) da espuma diluída 100x da ETE ANA.....	59
Figura 21 – Gráfico box plot para porcentagem de índice mitótico (A), índice de aberrações cromossômicas (B) e mutagenicidade (C) das amostras com NH <sub>4</sub> Cl e NaNO <sub>3</sub> .....	61
Figura 22- Fotos de algumas células avaliadas.....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Data das coletas nas ETEs ANA e LA .....	27
Tabela 2 - Resultados das análises dos parâmetros físico-químicos da ETE LA .....	34
Tabela 3 - Resultados das análises dos parâmetros físico-químicos da ETE ANA .....	36
Tabela 4 - Comprimento das raízes de <i>A. cepa</i> das Estações de Tratamento LA e ANA (média ± desvio padrão) .....	40
Tabela 5 – Comprimento das raízes de <i>A. cepa</i> das Estações de Tratamento LA e ANA nos ensaios (média ± desvio padrão).....	41
Tabela 6 – Comprimento das raízes de <i>A. cepa</i> da espuma diluída 100x da ETE ANA.....	45
Tabela 7 – Comprimento das raízes de <i>A. cepa</i> nas soluções de $\text{NH}_4\text{Cl}$ e $\text{NaNO}_3$ .....	47
Tabela 8 - Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para as ETEs (média ± desvio padrão) .....	49
Tabela 9 – Índices obtidos para as amostras das ETEs LA e ANA nos ensaios realizados (média ± desvio padrão).....	56
Tabela 10 – Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para a espuma da ETE ANA diluída 100 x (média ± desvio padrão) .....	58
Tabela 11 – Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para as soluções de $\text{NH}_4\text{Cl}$ e $\text{NaNO}_3$ (média ± desvio padrão) .....	60
Tabela 12 - Matrizes de correlação para IAC, Imut e IM da ETE ANA com outras variáveis.....	63
Tabela 13 - Matrizes de correlação para IAC, Imut e IM da ETE LA com outras variáveis.....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ETE - Estação de Tratamento de Efluentes

IM - Índice Mitótico

Imut - Índice de Mutagenicidade

IAC - Índice de aberrações cromossômicas

DQO - Demanda química de oxigênio

N - Nitrogênio

P - Fósforo

NH<sub>3</sub> - Nitrogênio amoniacal

NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - Íon amônio

DNA - Ácido desoxirribunucleico

RALF - Reator anaeróbio de leito fluidizado

NTK - Nitrogênio total Kjeldahl

N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - Nitrogênio na forma de amônio

N-NO<sub>2</sub> - Nitrogênio na forma de Nitrito

N-NO<sub>3</sub> – Nitrogênio na forma de Nitrato

SST – Sólidos suspensos totais

SSV - Sólidos suspensos voláteis

SSF - Sólidos suspensos fixos

ST - Sólidos totais

SV - Sólidos voláteis

SF - Sólidos fixos

CN - Controle negativo

NaNO<sub>3</sub> – Nitrato de sódio

NH<sub>4</sub>Cl – Cloreto de amônio

CP - Controle positivo

*A. Cepa – Allium cepa*

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	13
2.1	OBJETIVO GERAL	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	14
3.1	ESGOTO SANITÁRIO	14
3.1.1	Processo de Tratamento de Esgoto Sanitário	15
3.2	TOXICIDADE DE EFLUENTES	17
3.3	BIOLOGIA CELULAR	19
3.4	TESTES COM <i>A. CEPA</i>	23
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	26
4.1	DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA	26
4.2.1	Caracterização físico-química das amostras	28
4.3	ENSAIOS COM <i>Allium cepa</i>	29
4.3.2	Preparo dos bulbos de <i>Allium cepa</i>	30
4.3.3	Preparo das raízes	31
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	34
5.1	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ESGOTO UTILIZADAS NOS ENSAIOS	34
5.1.1	Caracterização físico-química das amostras de esgoto coletadas na ETE LA	34
5.1.2	Caracterização das amostras coletadas na ETE ANA	35
5.2	RESULTADOS DOS ENSAIOS DE TOXICIDADE COM <i>A. cepa</i>	38
5.2.1	Toxicidade a partir do crescimento da raiz	38
5.2.2	Análise microscópica das raízes	48
5.2.3	Anomalias celulares encontradas	67
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	70
	REFERÊNCIAS	71

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade dos ecossistemas e dos recursos naturais tem sido gravemente comprometida devido ao uso irregular e abusivo. A densidade populacional e industrial está diretamente ligada ao consumo desses recursos e à geração de águas residuárias que afetam o ambiente. Portanto, a implantação de estações de tratamento de efluentes (ETEs) é importante para que a capacidade poluidora de esgotos seja diminuída e os recursos hídricos preservados (CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019)

As ETEs têm o papel de tratar águas residuárias e devolvê-las ao ambiente com qualidade suficiente para evitar a degradação do mesmo. Esta é uma questão de grande importância, pois a escassez de água tem sido um problema recorrente. Ao recuperar a água dentro do ciclo antrópico, poupa-se a retirada desta do ciclo natural (PINTILLIE *et al.*, 2016).

No Estado do Paraná, a relação entre população e capacidade de tratamento de esgoto instalada é de 86,5%. O principal sistema de tratamento utilizado é o UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket), aqui chamado de RALF (Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado), que é uma modificação do UASB, com 256 unidades, seguido pelas lagoas de estabilização, com 23 unidades, e lodos ativados, com 8 unidades. Em termos percentuais essas tecnologias representam 89%, 8% e 3% do total, respectivamente com relação ao número de unidades. Estes números colocam o estado do Paraná como, provavelmente, o maior parque de reatores UASB do mundo (CHERNICHARO *et al.*, 2018).

Quando o tratamento de efluentes é falho, pode haver disseminação de doenças, que podem acarretar graves problemas, desde o aumento no número de internações hospitalares, até o aumento da violência. Pessoas que vivem em ambientes sem saneamento básico estão mais propensas a ficar doentes e, por isso, muitas vezes, deixam de estudar. Quanto menor o nível escolar, menor o salário e maior a chance dessa pessoa entrar para o mundo do crime. Em razão disto, estabelecer sistemas de tratamento de águas residuárias adequados e eficientes, é uma questão essencial para a manutenção da qualidade de vida (LAM; KURISU e HANAKI, 2015).

Tendo em vista o aumento da densidade populacional, a quantidade de água a ser tratada tende a um aumento significativo. Uma preocupação no que se refere à

qualidade dos efluentes que retornam ao leito do rio é quanto ao nível de toxicidade que apresentam. Este é um dos principais desafios atualmente, avaliar adequadamente as tecnologias de tratamento de efluentes, no que refere à sua capacidade de minimizar os riscos toxicológicos para a biota e para a saúde humana (PRASSE *et al.*, 2015).

Os parâmetros físico-químicos já não são o bastante para a classificação dos riscos das águas residuárias das ETEs. Análises e estudos que apontem os efeitos tóxicos têm sido utilizados, como os ensaios de ecotoxicidade. Esses ensaios são utilizados para reconhecer, prever e analisar os potenciais efeitos que uma substância tóxica ou o conjunto delas pode vir a causar no meio ambiente (PALMA *et al.*, 2016; PAPA *et al.*, 2016; OGGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Os testes de toxicidade são considerados de grande importância para análises ecotoxicológicas já que estes apresentam vantagens como o fornecimento de uma estimativa dos efeitos letais e sub-letais do substrato, a identificação de toxicidade quando o agente tóxico não pode ser reconhecido quimicamente e podem viabilizar um sinal de alarme ou prever os potenciais danos ao meio ambiente. Somado a isso, essa análise ainda permite detectar a toxicidade da amostra como um todo, avaliando os efeitos combinados de diferentes constituintes contidos na amostra, enquanto que a análise química permite apenas quantificar as substâncias isoladas (MORALES, 2004).

Os bioensaios com plantas para testes de toxicidade são variados, entretanto, testes com *Allium cepa* têm sido muito utilizados, por ser um organismo de teste eficiente como indicador de toxicidade (PALMIERI *et al.*, 2016; MAZZEO *et al.*, 2015), e ser validado pelo Programa Ambiental das Nações Unidas, Organização Mundial da Saúde Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (MAURO *et al.*, 2014).

Com a finalidade de se avaliar as características de toxicidade dos esgotos tratados por processos biológicos anaeróbios e aeróbios, este estudo busca caracterizar as águas residuárias de duas ETEs do Estado do Paraná. Uma ETE que trata seus esgotos por processos biológicos anaeróbios, via reator e filtros anaeróbios, aqui denominada de ETE ANA, e uma ETE que trata seus esgotos por processo biológico aeróbio por lodos ativados, aqui denominada de ETE LA.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de duas ETEs quanto à redução da toxicidade em diferentes etapas do tratamento utilizando ensaios ecotoxicológicos com bulbos de *A. cepa*.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Avaliar a eficiência de remoção de DQO e nitrogênio total na ETE ANA;
- Avaliar a eficiência de remoção de DQO e nitrogênio total na ETE LA;
- Avaliar o desenvolvimento das raízes dos bulbos de *A. cepa* germinados em amostras da ETE ANA;
- Avaliar o desenvolvimento das raízes dos bulbos de *A. cepa* germinados em amostras da ETE LA;
- Avaliar genotoxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade nas células radiculares de bulbos *A. cepa* cultivados em amostras de esgoto coletadas na ETE ANA, por meio da avaliação dos cromossomos;
- Avaliar genotoxicidade, citotoxicidade e mutagenicidade nas células radiculares de bulbos *A. cepa* cultivados em amostras de esgoto coletadas na ETE LA, por meio da avaliação dos cromossomos;
- Relacionar os parâmetros físico-químicos com os parâmetros de toxicidade da ETE ANA;
- Relacionar os parâmetros físico-químicos com os parâmetros de toxicidade da ETE LA.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 ESGOTO SANITÁRIO

As águas residuárias urbanas, comumente conhecidas como esgoto doméstico urbano, tem demandado uma maior atenção em virtude do aumento da densidade populacional. Sabe-se que, acompanhado dessa expansão, está o aumento da industrialização, cujos resíduos podem conter substâncias prejudiciais à saúde e ao meio ambiente.

Em meio a variados contaminantes contidos nos esgotos sobressaem-se os sólidos dissolvidos inorgânicos, metais, compostos não biodegradáveis, patógenos, nutrientes (N e P) e compostos orgânicos. Este último composto por proteínas (40 a 60%), carboidratos (25 a 50%) e óleos e graxas (10%). Eventualmente, pode-se encontrar outros contaminantes que apresentam certo grau de toxicidade provenientes de práticas industriais e/ou acidentais e até mesmo clandestinos (CORREA *et al.*, 2016).

Outro contaminante que também é preocupante quando se trata de toxicidade é o nitrogênio. Este elemento está presente em abundância no esgoto sanitário e, dependendo da forma em que se encontra, pode ser extremamente tóxico. Segundo Polak (2018), os compostos inorgânicos presentes em maior quantidade nos esgotos são o nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) ou o íon amônio ( $\text{NH}_4^+$ ).

O nitrogênio na forma de amônia, quando lançado em um corpo hídrico é extremamente tóxico, principalmente para os peixes. Na forma de nitrito e nitrato, torna-se nocivo também para os seres humanos (VON SPERLING, 1996)

A maior preocupação com relação aos compostos contendo nitrogênio é a ocorrência da eutrofização, sendo esta, caracterizada por provocar crescimento de plantas aquáticas de forma excessiva e acarretar sérios problemas tanto para o corpo hídrico quanto para a saúde humana. Um dos principais problemas com relação a eutrofização é a liberação de compostos tóxicos por algumas algas, elevando o nível de toxicidade do corpo hídrico (VON SPERLING, 1996).

O corpo hídrico pode receber compostos tóxicos provenientes de atividades antropogênicas, que liberam substâncias nocivas para o meio ambiente, como, por exemplo, o escoamento de agrotóxicos e fertilizantes, além do lançamento de



efluentes industriais sem o devido tratamento e lançamentos clandestinos (OGGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

### 3.1.1 Processo de Tratamento de Esgoto Sanitário

Chernicharo et al. (2018) fizeram um levantamento dos sistemas de tratamento de esgotos nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do país e constataram que, no estado do Paraná, os principais processos utilizados para tratar esgoto sanitário são:

- RALF: Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado, uma modificação do UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket). É um processo biológico anaeróbio.
- Lagoas de estabilização: processo biológico que utiliza vias anaeróbias e aeróbias para tratar os esgotos.
- Lodos ativados: processo biológico aeróbio.

Nesta pesquisa foram coletados efluentes de ETEs que utilizam RALF e sistema de lodos ativados para tratar seus efluentes. Assim, abaixo se encontra a explicação sobre esses dois processos biológicos.

#### 3.1.1.1 Reator Anaeróbio de Leito Fluidizado (RALF)

RALF é o nome dado para o reator do tipo UASB, *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*, após algumas modificações construtivas, um reator que opera com fluxo ascendente (JÜRGENSEN, *et al.*, 2001). Os tratamentos por processos anaeróbios são considerados uma tecnologia sustentável, pois, além de não haver consumo de energia elétrica no seu funcionamento, ainda geram biogás que é uma mistura de metano dióxido de carbono e outros gases, que pode ser utilizado como fonte de energia. Esse processo é baseado na decomposição da matéria orgânica por microrganismos anaeróbios. Caracteriza-se pela alta taxa de remoção de matéria orgânica em um baixo tempo de retenção hidráulica, além do baixo custo e baixo consumo de energia (CHERNICHARO, 2016; KHAN, *et al.*, 2011).

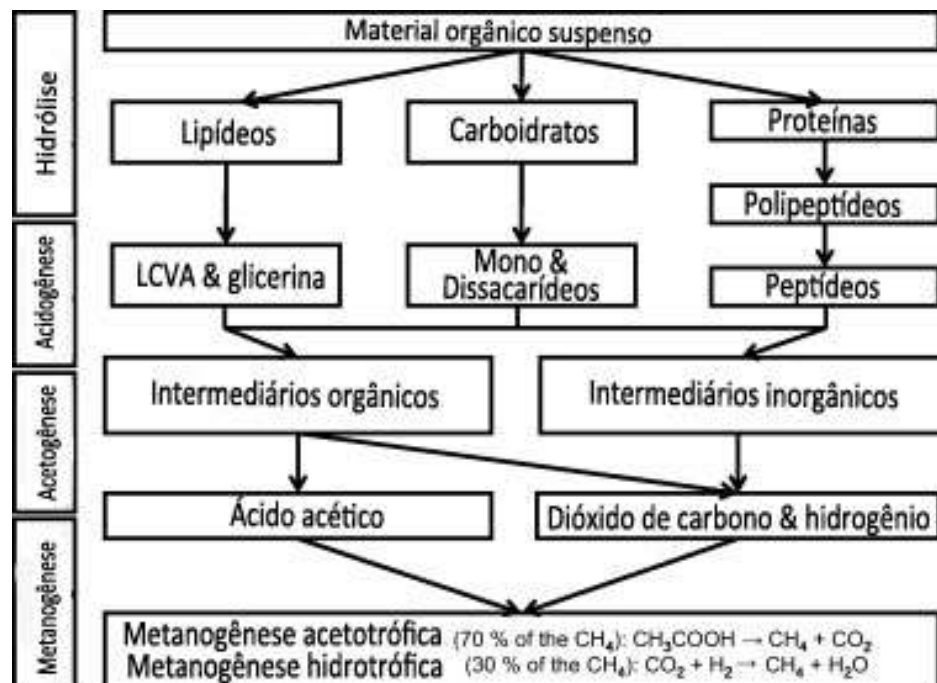
Nos reatores do tipo RALF há uma alta concentração da biomassa (microrganismos), que está presente na forma de lodo. Esses microrganismos convertem a matéria orgânica em, principalmente, lodo e biogás (METCALF & EDDY, 1991). O efluente do RALF, na maioria das vezes, ainda necessita de pós-tratamento

para polimento e remoção da DQO restante. O pós-tratamento desse efluente pode ser feito em filtros anaeróbios (POLAK, 2018; OLIVEIRA, 2020).

Segundo Sant'Anna Jr. (2010), pode-se resumir as transformações da biodigestão anaeróbia em, de maneira resumida, quatro etapas (Figura1):

- Hidrólise: nesta etapa, através da ação de diversos microrganismos que produzem enzimas hidrolíticas, a matéria orgânica complexa, como carboidratos, lipídios e proteínas, é convertida a compostos de menor massa, como açúcares, ácidos graxos e aminoácidos;
- Acidogênese: nesta etapa os compostos orgânicos simples são fermentados gerando os ácidos orgânicos voláteis (AGV), como ácidos acético, propiônico, butírico e valérico;
- Acetogênese: ou fermentação acetogênica, é a etapa onde bactérias denominadas acetogênicas transformam os AGV de cadeia longa em ácido fórmico ou acetato;
- Metanogênese: esta é a etapa onde os ácidos de cadeia curta serão convertidos a metano, através da ação de arqueas metanogênicas.

**Figura 1** – Esquema da digestão anaeróbia.



Fonte: Adaptado de MADSEN, M.; HOLM-NIELSEN, J. B.; ESBENSEN, K. H. Monitoring of anaerobic digestion processes: a review perspective. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 3141-3155, ago. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032111001705>. Acesso em: 26 set. 2021.

Como resultado final do tratamento anaeróbio com uso de reatores RALFs tem-se o esgoto tratado, espuma, lodo e biogás.

### 3.1.1.2 Reator de Lodos Ativados

O processo de lodos ativados é baseado na oxidação bioquímica dos compostos orgânicos e inorgânicos presentes nos esgotos. É o sistema mais difundido no mundo. É conduzido por uma grande diversidade de microrganismos em um meio aeróbio, ou seja, os microrganismos aeróbios são os principais responsáveis pela metabolização da matéria orgânica (METCALF & EDDY, 1996; SANT'ANNA JR., 2010; SOARES, *et al.*, 2014; GOLDONI, *et al.*, 2014).

No sistema lodos ativados o efluente, obrigatoriamente, passa por um tanque de aeração com elevada concentração de microrganismos em suspensão, que vão decompor a matéria orgânica presente, transformando-a, principalmente, em novos microrganismos e CO<sub>2</sub> (SANT'ANNA JR., 2010; METCLAF & EDDY, 1996).

A fase final do sistema é o decantador secundário, onde ocorre a sedimentação dos sólidos, e o lodo resultante dessa fase é chamado de lodo secundário. O sobrenadante clarificado é o efluente tratado por essa etapa, que pode ser descartado em um corpo d'água ou submetido a mais alguma etapa de tratamento, se necessário. Parte do lodo sedimentado será destinada a tratamentos específicos, como secagem, e parte retorna para o tanque de aeração. Essa biomassa é o principal ponto para a eficiência na depuração do efluente e, consequentemente, na eficácia da ETE (VON SPERLING, 1996; METCALF & EDDY, 1996; SANT'ANNA JR, 2010; PAULA, *et al.*, 2018).

Como produto final da ETE com sistema de lodos ativados tem-se o esgoto tratado e lodo em grande quantidade.

## 3.2 TOXICIDADE DE EFLUENTES

A toxicidade das águas de um corpo hídrico pode estar associada ao lançamento de efluentes sem o devido tratamento. Em razão disto, analisar a toxicidade tem sido extremamente relevante, pois podem se fazer presentes nas águas uma grande quantidade de substâncias que apresentam um potencial tóxico, sendo que o efeito de muitas delas pode ser potencializado quando há interação com

outros agentes químicos (ZHANG *et al.*, 2015; OGGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Vários contaminantes podem estar associados a toxicidade de um efluente, como a presença de  $\text{N-NH}_3$ , alguns produtos químicos como surfactantes, desinfetantes, amaciantes e outros tipos de detergentes e alguns tipos de defensivos agrícolas. Além desses, os danos citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos podem estar associados a elevados níveis de metais pesados, cianotoxinas e contaminantes orgânicos de origem urbana e hospitalar (LUTTERBECK *et al.*, 2018; DE CASTRO; SOUSA *et al.*, 2017).

O estudo de Radić *et al.* (2010), que utiliza o teste com *Allium cepa* para amostras de águas residuais superficiais, mostra que os efeitos tóxicos mais fortes estão relacionados ao ponto onde há indústrias químicas de produção de antibióticos e fertilizantes artificiais e que a alta nos índices de toxicidade pode ser atribuída à complexidade desses efluentes que, muitas vezes, são lançados sem controle químico adequado. O mesmo efeito sobre a ação de antibióticos foi relacionado por Peixer *et al.* (2017) e Moro *et al.* (2017).

Caritá e Marin-morales (2008) e Khan, Anas e Malik (2019) citam que o efluente de indústria têxtil pode acarretar danos quanto aos parâmetros toxicológicos principalmente corantes, aminas aromáticas e a presença de alguns metais podem ser prejudiciais para as células de *A. cepa*.

Outro composto que apresenta efeito tóxico para células de *A. cepa* são os cresóis. Segundo Mazzeo *et al.* (2015), essas substâncias ou o efeito sinérgico delas e outros contaminantes podem ser extremamente prejudiciais para as células de *A. cepa* indicando um ambiente de crescimento tóxico.

Alguns herbicidas também podem estar entre os potenciais contaminantes nos testes de ecotoxicidade, como por exemplo o herbicida trifluralina, que é um pré-emergente de aplicação direta no solo, controlando plantas daninhas em culturas de grande importância e produção, como a soja e feijão. Nos testes de ecotoxicidade, a trifluralina tem sido utilizada como controle positivo, pois induz o aparecimento de irregularidades celulares, como alterações cromossômicas e nucleares nas células da raiz (MAZZEO; MARIN-MORALES, 2015).

O potencial tóxico de uma substância ou mais depende da biodisponibilidade, concentração, tempo, janelas de exposição e suscetibilidade da espécie que estarão expostas a esses contaminantes. Os impactos toxicológicos na qualidade da água

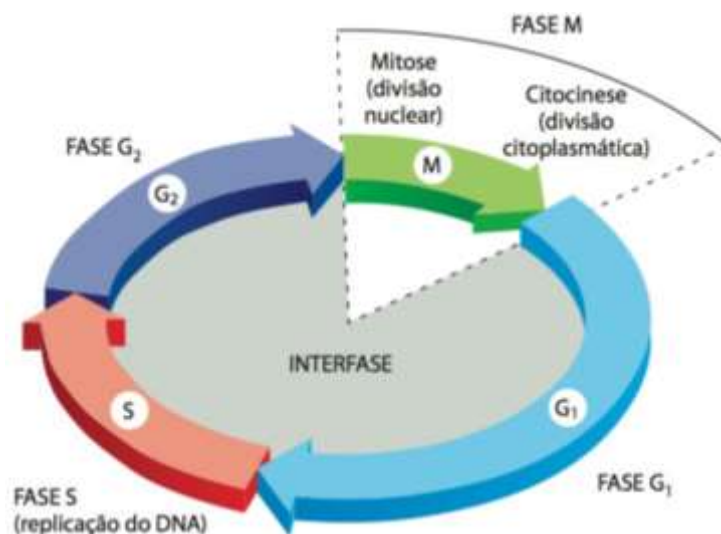
podem ser observados por meio de testes toxicológicos, onde se utilizam organismos que podem ser indicados para caracterizar esses impactos. Esse tipo teste é considerado, além de importante, rápido e fácil para se avaliar fatores de vitalidade celular, pois uma combinação com ensaios de mutagenicidade e genotoxicidade garantem um resultado mais preciso e, portanto, podem ser considerados como relevantes para avaliar a qualidade da água (PRASSE *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015).

O conhecimento das fases da divisão celular é de extrema importância para a análise da ecotoxicidade, o que será explicado no texto a seguir.

### 3.3 BIOLOGIA CELULAR

Todo indivíduo é formado por células, que são unidades microscópicas formadoras de tecidos e órgãos, delimitadas por membranas. São fundamentais para os seres vivos, pois possuem uma incrível habilidade de reprodução, que implica na utilização de um mecanismo pelo qual todos os seres vivos se reproduzem, a divisão celular. É através desse ciclo de divisão (Figura 2) que a célula duplica o seu conteúdo e se divide em duas. A distribuição do material genético celular acontece de forma impressionante, e esse processo minucioso envolve várias etapas que precisam estar ordenadas (ALBERTS *et al.*, 2017; OGGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

**Figura 2** – Etapas do ciclo celular

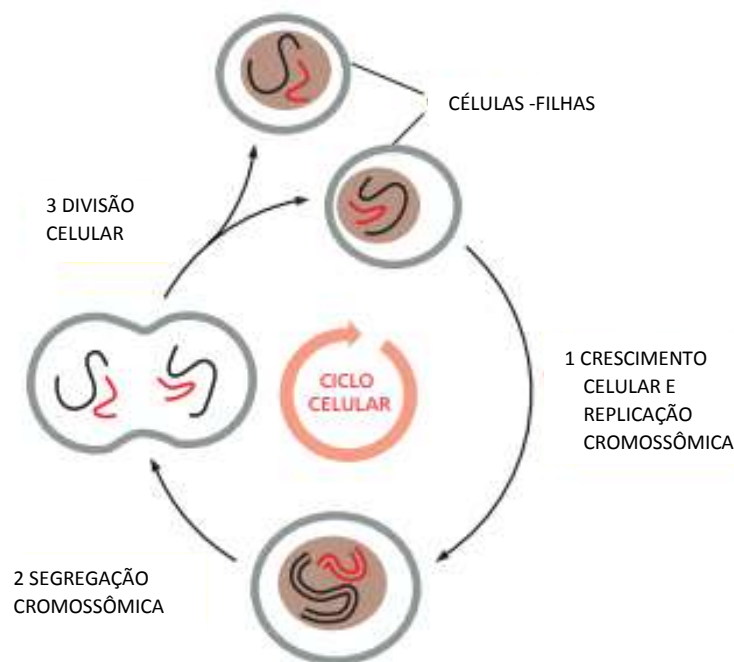


Fonte: ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da biologia celular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

O ciclo celular é composto pela Interfase (fase G1, S e G2) e pela fase M, onde ocorre a mitose e a citocinese. A interfase é o período mais longo do processo de divisão, ocorrendo a expansão da célula e a replicação do seu conteúdo. Na fase M ocorre a mitose, ou seja, os materiais se dividem igualmente para cada lado da célula, finalizando com a citocinese que é a divisão do citoplasma (DE ROBERTIS; HIB, 2012).

Quando uma célula entra no ciclo celular, mediante interfase, ela começa a aumentar de tamanho. Os centríolos, que são estruturas de onde saem fibras que arrastam os cromossomos para um lado da célula, são duplicados juntamente com o DNA (ácido desoxirribonucleico). Nesse processo a célula se reestrutura para que a divisão ocorra de maneira proporcional e para que, ao final da divisão celular, tenham-se duas células geneticamente idênticas. Cada fase tem sua importância, mas o foco deste estudo será a fase M, onde ocorre a divisão nuclear e a divisão citoplasmática (Figura 3) (ALBERTS *et al.*, 2017).

**Figura 3-** Esquema simplificado do ciclo celular

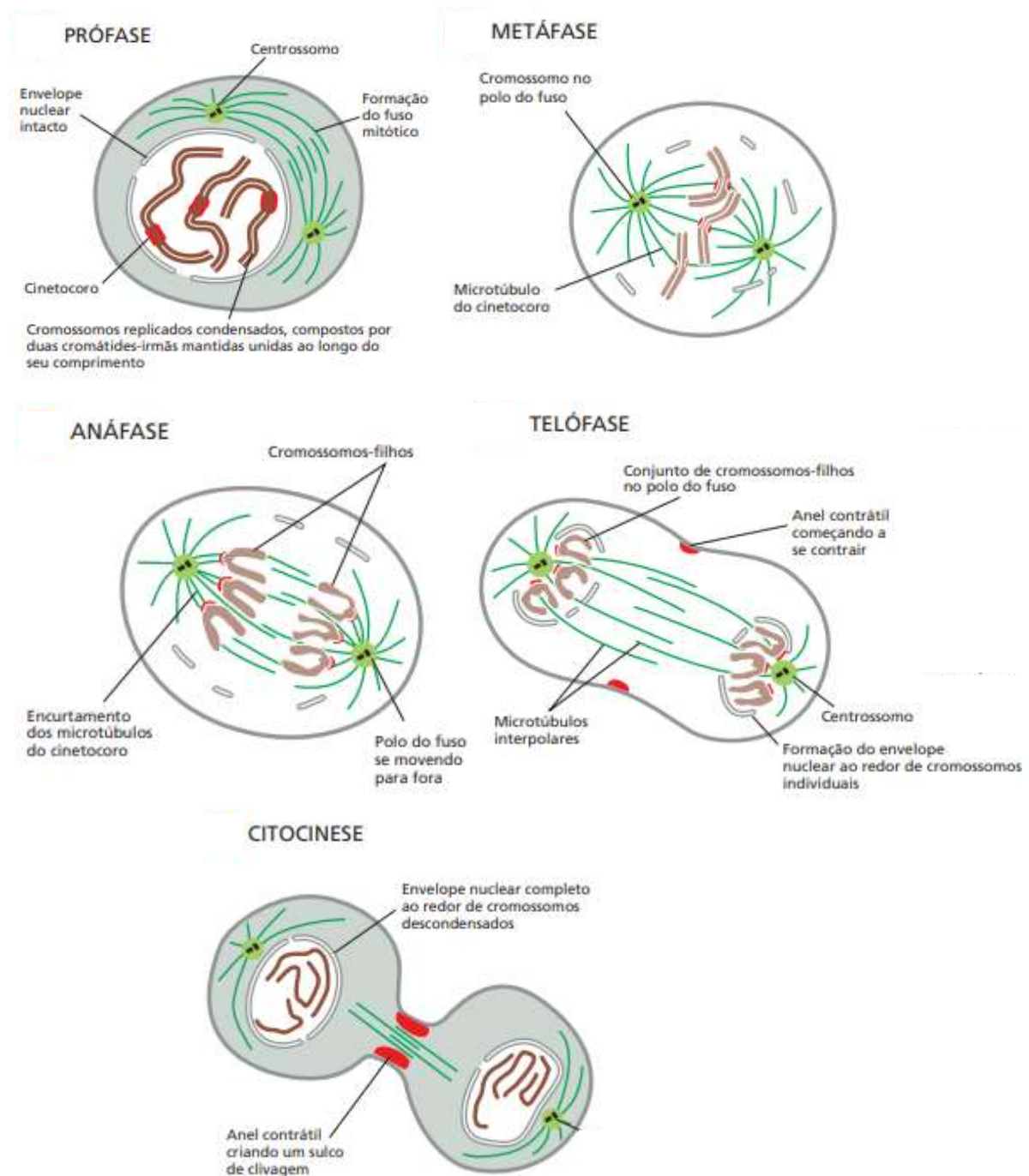


Fonte: ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da biologia celular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

Durante a fase M (mitose), antes da citocinese, ocorrem etapas muito importantes do processo de divisão celular: prófase, metáfase, anáfase e telófase (Figura 4). Na prófase os cromossomos já duplicados se condensam, enquanto forma-

se o fuso mitótico. Já na metáfase os cromossomos ficam alinhados no meio da célula, de onde pode-se associar ao nome desta etapa. Na fase de anáfase os microtúbulos, ligados aos cromossomos, começam a se encurtar separando as cromátides-irmãs em direção a polos opostos. Durante a telófase os cromossomos chegam cada um a um polo celular e uma nova carioteca é formada marcando o fim da mitose. Ainda na telófase inicia-se o processo de formação do anel contrátil que irá dividir o citoplasma e finalizar a divisão celular com a citocinese (ALBERTS *et al.*, 2017, CARVALHO; RECCO-PIMENTEL, 2013).

**Figura 4 - Fases da divisão celular, fase M**



Fonte: adaptado de ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da biologia celular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

O dinamismo da divisão celular é o mesmo em todos os organismos eucariotos (CARVALHO; RECCO-PIMENTEL, 2013). Todas as células vegetais possuem a mesma composição básica eucariótica. Quando o vegetal está em



crescimento, há um lugar específico na raiz onde esse processo ocorre, chamada região de divisão celular.

Ocasionalmente, quando influenciada pelo meio, podem ocorrer defeitos em uma ou mais etapas da divisão celular e quando ocorre algum tipo de falha na divisão, as células se modificam e os cromossomos agem de maneira inadequada. Esse tipo de defeito pode ser observado em células que apresentam cromossomos com tamanho visível microscopicamente (Figura 5) e possuem elevado índice de divisão celular, que é o caso da espécie vegetal *Allium cepa* ( $2n = 16$  cromossomos) (MARTINS; SOUZA; SOUZA, 2016; MAZZEO *et al.*, 2015; LEME; MARIN-MORALES, 2019).

**Figura 5** – Cariótipo de *A. cepa*, com cada par representado por um número.



Fonte: LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, [S.L.], v. 682, n. 1, p. 71-81, jul. 2009. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404?casa\\_token=Vx4Fb4pgEIEAAAAA:MvfYWENxP6nGbp\\_HnMvrMdd9IQWejpqSH8bJPoFGMY6udLiXkKVUTCwcT3sILwLSZV2rOg\\_oBkWf](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404?casa_token=Vx4Fb4pgEIEAAAAA:MvfYWENxP6nGbp_HnMvrMdd9IQWejpqSH8bJPoFGMY6udLiXkKVUTCwcT3sILwLSZV2rOg_oBkWf). Acesso em: 05 abr. 2021.

### 3.4 TESTES COM *A. CEPA*

Os testes com plantas são excelentes indicadores de toxicidade. O teste com *Allium cepa* tem sido muito utilizado em vários trabalhos como indicador de qualidade ambiental, principalmente quanto à eficácia dos processos de descontaminação. Estes testes são simples e confiáveis para determinar o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico, mas requerem ser manuseados cuidadosamente (CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; MARTINS; SOUZA; SOUZA, 2016; MAZZEO *et al.*, 2015).

O teste com *Allium cepa*, especificamente com o bulbo, foi utilizado pelo fácil manuseio e por apresentar cromossomos grandes, fácil de visualizar e de identificar quantos as fases de divisão se apresentando sensíveis quanto a toxicidade do meio.

Nos testes de citotoxicidade utiliza-se como parâmetro de avaliação as alterações no índice mitótico (IM) celular para definir o potencial citotóxico do objeto de estudo. O IM é definido pela quantidade de células em divisão celular, dividido pelo total de células analisadas (Equação 1) (BONOMO, 2014; CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; LUTTERBECK *et al.*, 2018).

$$IM = \frac{n^{\circ} \text{ de células em divisão}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (1)$$

Para identificar agentes que possuem potencial genotóxico, utilizam-se como critério as aberrações cromossômicas encontradas nas células, como brotamento, perda cromossômica, aderência cromossômica, anáfases multipolares bem como pontes, atrasos na anáfase e na telófase, entre outros. Pode-se calcular também o índice de aberrações cromossômicas (IAC) utilizando o número de células contendo aberrações dividido pelo total de células analisadas (Equação 2) (BONOMO, 2014; CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; LUTTERBECK *et al.*, 2018).

$$IAC = \frac{n^{\circ} \text{ de células com aberrações}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (2)$$

Nos testes de mutagenicidade avalia-se a formação de micronúcleos nas células obtendo-se o índice de mutagenicidade (Imut) (Equação 3) (BONOMO, 2014; CARITÁ; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2019; LUTTERBECK *et al.*, 2018).

$$IMUT = \frac{n^{\circ} \text{ de células com micronúcleos}}{n^{\circ} \text{ total de células analisadas}} \times 100 \quad (3)$$

A variação do IM pode indicar a presença de contaminante com potencial tóxico que são comparados a controles, previamente preparados, que passam pelos mesmos processos, sendo o controle positivo uma amostra com um agente mutagênico que apresenta ação de induzir anomalias nas células, já o controle

negativo uma amostra com um agente que não induz o aparecimento de aberrações celulares.

As características morfológicas (comprimento, espessura e quantidade de raízes) podem variar de acordo com o potencial tóxico da amostra contida no recipiente de crescimento. No caso de uma toxicidade elevada podem ocorrer as seguintes variações: apresentar-se de maneira desigual, com crescimento irregular, espessura expandida, raízes distorcidas morfológicamente, formação de tumores e a quantidade de raízes podem variar até a total inibição do crescimento (BOLONHESI; LOPES, 2018; FISKEJÖ, 1985; ALVIM, *et al.*, 2011; SINGH, *et al.*, 2013; FISKEJÖ, 1988). Quando a toxicidade é reduzida ou ausente as amostras de *A. cepa* podem apresentar raízes com crescimento bastante regular, maior em quantidade, espessura igual, quando comparada ao controle negativo. Pode ocorrer que baixas doses de substâncias com potencial tóxico estimulem o desenvolvimento da raiz, de forma que se torne mais resistente (teoria da hormese) (STEBBING, 1982) com dependência do tempo em que ficaram expostas (PATNAIK; ACHARY; PANDA, 2013).

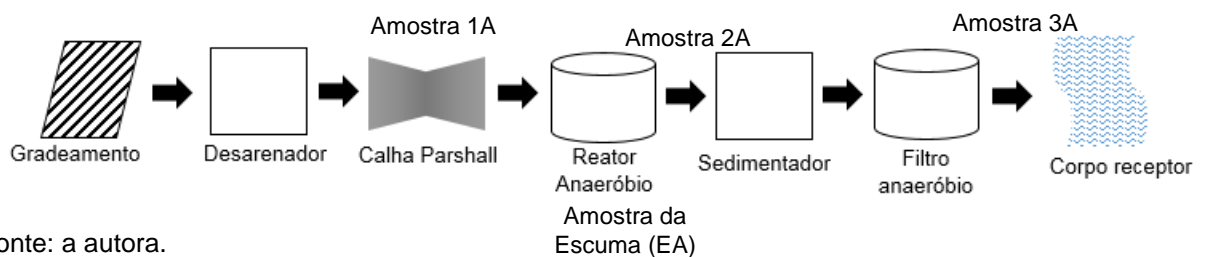
## 4 METODOLOGIA

### 4.1 DESCRIÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA

O presente estudo foi realizado com amostras de afluente e efluente coletadas nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) aqui denominadas de ETE ANA, por operar com processo biológico anaeróbico, com reator RALF e ETE LA, por operar com processo biológico aeróbico, com tanques de lodos ativados.

Para obtenção das amostras foram realizadas amostragens simples, ou seja, era feita uma única coleta de amostra em cada ponto previamente determinado. As amostras da ETE ANA (Figura 6) foram coletadas em três pontos distintos: 1A – Calha Parshall (afluente); 2A – efluente do RALF (intermediária); 3A – Efluente do filtro anaeróbico (efluente). Na ETE ANA também foi feita uma única coleta de espuma do RALF. Ela foi usada de duas maneiras: diluída 100 vezes e não diluída.

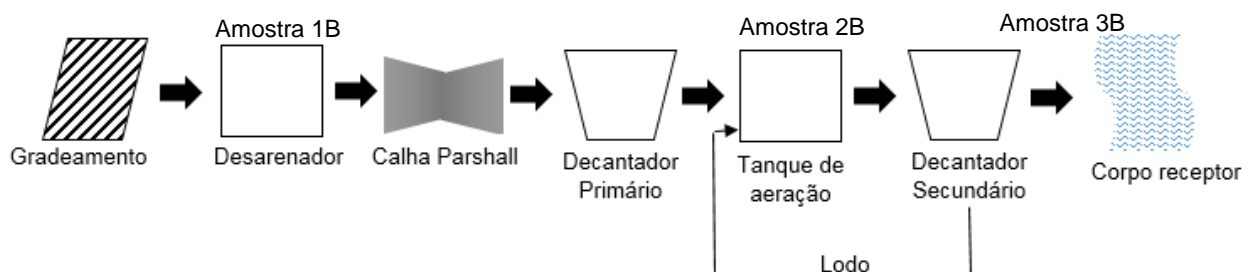
**Figura 6** – Fluxograma de amostragem ETE ANA.



Fonte: a autora.

Na ETE LA as amostras foram coletadas nos seguintes pontos: 1B – Desarenador (afluente); 2B – Tanque de Aeração (intermediária); 3B – Efluente do decantador secundário (efluente), totalizando 3 amostras por coleta (Figura 7).

**Figura 7** – Fluxograma de amostragem ETE LA.



Fonte: a autora.

As amostras foram coletadas em um período de 7 meses nos anos de 2020 e 2021, conforme disponibilidade das ETEs. As amostras da ETE ANA foram analisadas em quatro ensaios de toxicidade e as da ETE LA em seis ensaios (Tabela 1).

**Tabela 1** – Data das coletas nas ETEs ANA e LA.

Ensaio	Amostras coletadas	Data da coleta
ETE ANA		
1ANA	1A – Desarenador	06/08/2020
	2A – RALF	
	3A – Efluente do filtro anaeróbio	
2ANA	1A – Desarenador	03/09/2020
	2A – RALF	
	3A – Efluente do filtro anaeróbio	
	EA - Escuma	
3ANA	1A – Desarenador	22/10/2020
	2A – RALF	
	3A – Efluente do filtro anaeróbio	
4ANA	1A – Desarenador	25/02/2021
	2A – RALF	
	3A – Efluente do filtro anaeróbio	
ETE LA		
1LA	1B – Desarenador	06/07/2020
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	
2LA	1B – Desarenador	06/08/2020
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	
3LA	1B – Desarenador	24/09/2020
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	
4LA	1B – Desarenador	15/10/2020
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	
5LA	1B – Desarenador	01/12/2020
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	
6LA	1B – Desarenador	24/02/2021
	2B -Tanque de aeração	
	3B - Decantador secundário	

Todas as amostras foram coletadas em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) limpos e com tampa, com capacidade de 1L. Após coletadas as amostras foram levadas ao laboratório e mantidas sob refrigeração a 4°C até o momento do uso de acordo com o que preconiza o *Standard Methods for Examination of water and wastewater* (APHA, 1998).

Após coletadas as amostras foram caracterizadas com relação aos parâmetros descritos no Quadro 1 e, então, nos ensaios de toxicidade com bulbos de *Allium cepa*. Os bulbos de *A. cepa* eram colocados em contato com as amostras no mesmo dia em que eram coletadas.

#### 4.2.1 Caracterização físico-química das amostras

Todas as amostras coletadas foram caracterizadas com relação ao pH, demanda química de oxigênio (DQO), nitrogênio total Kjeldahl (NTK), nitrogênio na forma amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ), nitrogênio na forma de nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ), nitrogênio na forma de nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) e análise da série de sólidos (SST, SSV, SSF, ST, SV, SF), além de DQO filtrada (DQOf) a fim de verificar a interferência dos sólidos. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Estudos do Meio Ambiente (LEMA) do Departamento de Engenharia de Alimentos na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), segundo método descrito em APHA (1998) (Quadro 1).

**Quadro 1** – Descrição dos parâmetros estabelecidos

Parâmetro		Unidade	Método
<b>Ph</b>	Potencial hidrogeniônico	-	Potenciométrico APHA (4500h+B)
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxigênio	mg L <sup>-1</sup>	Colorimétrico APHA (5220D)
<b>NTK e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Nitrogênio Total Kjeldahl e Nitrogênio amoniacal	mg L <sup>-1</sup>	Micro kjeldahl e Titulométrico APHA (4500 Norg e NH <sub>3</sub> C)
<b>N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Nitrito e Nitrato	mg L <sup>-1</sup>	Colorimétrico APHA (4500 NO <sub>2</sub> B e CATALDO 1995)
<b>ST, SV, SF, SST, SSV, SSF</b>	Sólidos totais, fixos e voláteis, sólidos suspensos totais, fixos e voláteis	mg L <sup>-1</sup>	Gravimétrico APHA (2540 C e 2540 D)

Fonte: APHA. American Public Health Association, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 th. Ed., Washington, 1998.

Nota: Quadro elaborado pela autora.

#### 4.3 ENSAIOS COM *Allium cepa*

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Estudos do Meio Ambiente (LEMA) do Departamento de Engenharia de Alimentos na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), de julho de 2020 a fevereiro de 2021, segundo procedimento descrito em Caritá; Mazzeo e Marin-Morales (2019) e em Martins; Souza e Souza (2016), com algumas modificações.

Foram utilizados bulbos de *Allium cepa* produzidos de forma orgânica, da mesma variedade e, de preferência, do mesmo tamanho. Os bulbos eram comprados na semana em que o ensaio era realizado, sempre na mesma loja da seção de orgânicos do mercado municipal de Curitiba.

Os ensaios consistiram em se mergulhar o fundo dos bulbos nas amostras de esgoto ou espuma coletadas. Para cada amostra coletada foram utilizados três bulbos, para realização dos ensaios em triplicata.

##### 4.3.1 Meios de crescimento

Para os ensaios de ecotoxicidade foram utilizados 5 tipos de meio:

- Meio controle positivo: preparado com herbicida Trifluralina na concentração de  $0,84 \text{ mg L}^{-1}$  que, segundo Mazzeo e Marin-Morales (2015) e Fernandes, Mazzeo e Marin-Morales (2009), é considerado um poderoso agente mutagênico e possui elevada efetividade na indução de irregularidades celulares;

- Meio controle negativo: água destilada produzida no mesmo laboratório de estudo (LEMA);

- Meio com as amostras de esgoto coletadas nas ETEs LA e ANA;

- Meio com cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ), na concentração de  $40 \text{ mg N L}^{-1}$ ;

- Meio com nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ), na concentração de  $2 \text{ mg N L}^{-1}$ .

Os meios com cloreto de amônio ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) e nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ) foram utilizados para simular em laboratório os meios que contém esses compostos a fim de verificar a possível toxicidade que estes podem apresentar.

As amostras de esgoto coletadas em ambas as ETEs foram utilizadas como meio de crescimento sem nenhuma diluição. Utilizou-se cerca de 30 a 40 mL de amostra, que variou em função do tamanho e formato da cebola, em um recipiente plástico de PSAI (Poliestireno de Alto Impacto) com capacidade para 50mL, de forma que somente a base do bulbo ficasse em contato com a amostra (Figura 8).

**Figura 8** – Foto das cebolas (*Allium cepa*) em contato com as amostras.



Fonte: a autora.

#### 4.3.2 Preparo dos bulbos de *Allium cepa*



Inicialmente os bulbos de cebola foram limpos, descascados e colocados sobre as amostras de efluente, de maneira que a base do bulbo ficasse em contato com a amostra de efluente, como representado na Figura 8.

Para cada amostra coletada das ETEs foram preparados 3 bulbos de *A. cepa*. A preparação dos bulbos acontecia momentos antes da imersão dos mesmos nos meios de esgoto, branco ou controle.

Os bulbos, parcialmente imersos na amostra de efluente das ETEs, foram cobertos com papel alumínio, para evitar luminosidade e o consequente desenvolvimento de clorofila, e levados para uma incubadora BOD, marca SPLabor, modelo SP 500, com temperatura controlada em 24° C, durante 72 h.

#### 4.3.3 Preparo das raízes

Depois de 72 horas na incubadora, verificava-se o crescimento ou a inibição no desenvolvimento das raízes que estiveram em contato com as amostras dos controles e de efluentes e escuma das ETEs. As raízes, então, eram medidas e analisadas quanto ao tamanho e aparência externa, coletadas e fixadas em uma solução de etanol:ácido acético 3:1 (Solução Carnoy) por 5 minutos. Após esse período eram lavadas em água destilada e mantidas no álcool 70% sob refrigeração a 4° C, até o momento de preparação das lâminas.

##### 4.3.3.1 Avaliação do crescimento aparente das raízes

Para a caracterização da toxicidade foi analisado o crescimento e comprimento das raízes. Cada bulbo exposto às amostras tinha o comprimento das raízes medido com o auxílio de uma régua. Os valores obtidos eram comparados com os das raízes colocadas nas amostras de controle negativo e positivo.

##### 4.3.3.2 Análise microscópica das raízes

Para a montagem das lâminas, as raízes eram retiradas do álcool, lavadas em água destilada e submetidas à hidrólise ácida com HCl 4N. Após esse processo, as raízes eram lavadas novamente em água destilada e submetidas à coloração de Schiff (corante púrpura nucleofílico) por 50 minutos, em béqueres de vidro (Figura 9).

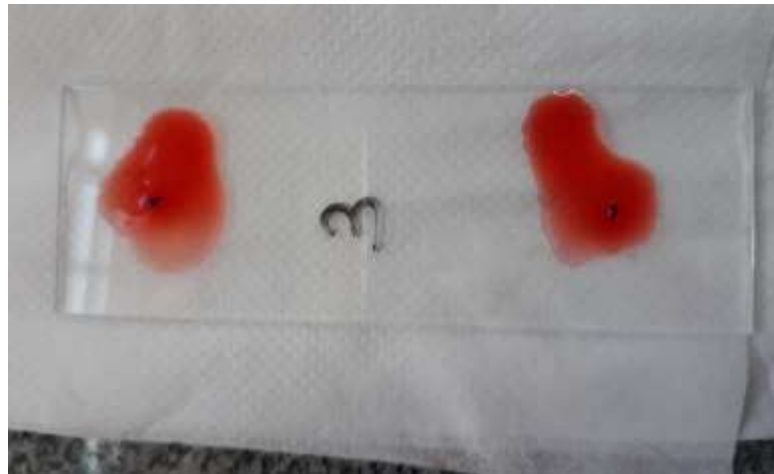
**Figura 9** – Foto das raízes corando na solução de Schiff.



Fonte: a autora.

Depois de coloridas, as raízes eram lavadas em água destilada e apenas sua extremidade coletada. Essa parte de raiz, onde está a maior parte das células em divisão, era colocada sobre a lâmina, levemente esmagada entre a lâmina e a lamínula com 1 gota do corante carmim acético (Figura 10) e separadas para observação em microscópio óptico na objetiva de 40x (CARITÁ; MAZZEO e MARIN-MORALES, 2019; KRÜGER, 2009).

**Figura 10** – Raiz na lâmina para microscopia.



Fonte: a autora.

Para análise de citotoxicidade e genotoxicidade foi feita a análise do índice mitótico pelo cálculo do número de células contadas nas lâminas, número de células em divisão e os defeitos cromossômicos apresentados.

Para análise de mutagenicidade foi analisada a presença de micronúcleos nas células meristemáticas das raízes.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram realizadas para a ETE LA 6 repetições do mesmo ensaio e para a ETE ANA 4 repetições, sendo cada repetição uma coleta dos 3 diferentes pontos das ETEs.

Os resultados obtidos nos ensaios foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e aplicado o teste de variância (ANOVA) com teste de Duncan para comparação.

Foram feitas análises de correlação de Pearson entre os parâmetros físico-químicos desse estudo e os resultados obtidos para toxicidade. O software utilizado para realização dos testes foi o R 3.6 e o suplemento action, do excel.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE ESGOTO UTILIZADAS NOS ENSAIOS

Todas as amostras coletadas no período que compreendeu este estudo foram submetidas a análises físico-químicas. Os resultados das concentrações dos parâmetros estudados que entraram nessa discussão, com a finalidade de serem relacionados à toxicidade, estão apresentados conforme o ensaio realizado.

#### 5.1.1 Caracterização físico-química das amostras de esgoto coletadas na ETE LA

Na Tabela 2 estão apresentados as médias e desvio padrão dos resultados obtidos na caracterização do efluente da ETE LA.

**Tabela 2** – Médias  $\pm$  desvio padrão dos resultados das análises dos parâmetros físico-químicos da ETE LA.

Parâmetros	1B	2B	3B
DQO (mg/L)	636 $\pm$ 267	2527 $\pm$ 1983	64 $\pm$ 32
DQOf (mg/L)	153 $\pm$ 197	84 $\pm$ 75	122 $\pm$ 190
NTK (mg/L)	59 $\pm$ 12	270 $\pm$ 119	19 $\pm$ 14
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	33 $\pm$ 13	28 $\pm$ 16	16 $\pm$ 10
N-NO <sub>3</sub> (mg/L)	1,6 $\pm$ 1,3	0,3 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,2
N-NO <sub>2</sub> (mg/L)	0,1 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,0	0,9 $\pm$ 1,7
ST (mg/L)	849 $\pm$ 292	4280 $\pm$ 1412	441 $\pm$ 144
SF (mg/L)	427 $\pm$ 74	1318 $\pm$ 462	291 $\pm$ 63
SV (mg/L)	422 $\pm$ 224	2962 $\pm$ 993	149 $\pm$ 102
SST (mg/L)	390 $\pm$ 280	2564 $\pm$ 2153	147 $\pm$ 102
SSF (mg/L)	146 $\pm$ 101	644 $\pm$ 501	69 $\pm$ 57
SSV (mg/L)	246 $\pm$ 187	1920 $\pm$ 1661	91 $\pm$ 74
pH	7,2 $\pm$ 0,3	7,4 $\pm$ 0,2	7,2 $\pm$ 0,2

\* DQOf: DQO da amostra filtrada.

\*\* 1B – Desarenador (afluente); 2B – Tanque de Aeração (intermediária); 3B – Efluente do decantador secundário (efluente).

Fonte: a autora.

Analisando a Tabela 2, pode-se observar que as amostras 2B são as que apresentam maiores valores de DQO. Esses valores elevados se explicam pelo fato dessas amostras serem provenientes do tanque de aeração, onde há uma elevada

concentração de sólidos em suspensão, característica do sistema de lodos ativados. Porém, ao se analisar os resultados das amostras 3B, coletadas na saída do decantador secundário, vê-se que houve eficiência na remoção dos sólidos e, então, os valores de DQO já estão bem menores, o que é confirmado pela análise da DQOf.

Através da análise das amostras coletadas pontualmente na ETE LA observa-se eficiência de remoção de DQO entre desarenador e decantador sempre acima de 85%, valor considerado elevado, com concentrações dentro do que estabelece a legislação, de  $250 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ .

A Resolução CONAMA 430 de 2011 (Brasil, 2011) que dispõe sobre padrões de lançamento de efluentes, estabelece que, para águas residuárias industriais, a concentração de  $\text{N-NH}_4$  não deve ultrapassar  $20 \text{ mg N L}^{-1}$ . Porém, essa legislação não se aplica a ETEs. Observa-se na Tabela 2 que as concentrações de  $\text{NH}_4^+$  na saída do decantador secundário, amostras 3B, variaram de 1 a  $31 \text{ mg L}^{-1}$ .

Essa mesma resolução citada estabelece que o pH esteja entre 5,0 e 9,0 para o lançamento de efluentes do sistema de tratamento de esgoto sanitário, o que é observado na tabela 2.

O teor de NTK elevado em todas as amostras 2B, do tanque de aeração, é comum, pois, ao coletar a amostra desse ponto, as bactérias que compõe o lodo (lodos ativados) são coletadas juntamente com o efluente. Pode-se verificar claramente a redução na concentração de NTK nas amostras do ponto 3B, coletadas na saída do decantador secundário. Os parâmetros nitrito e nitrato ficaram dentro do esperado para a ETE e a eficiência de remoção de NT se apresentou em torno de 62%.

Assim como a concentração de NTK, as concentrações de sólidos também foram maiores nas amostras 2B, coletadas no tanque de aeração. O lodo é presente também nos resultados dos sólidos, que pode ser observado pelos resultados de NTK.

De acordo com as características físico-químicas apresentadas nas análises da ETE LA, Metcalf & Eddy (1991) classificam esse efluente como um esgoto sanitário com características entre médio e forte.

#### 5.1.2 Caracterização das amostras coletadas na ETE ANA.

Na Tabela 3 encontram-se os resultados obtidos na caracterização do efluente da ETE ANA.

**Tabela 3** – Médias  $\pm$  desvio padrão dos resultados das análises dos parâmetros físico-químicos da ETE ANA.

Parâmetros	1 <sup>a</sup>	2A	3A	E
DQO (mg/L)	556 $\pm$ 582	253 $\pm$ 104	173 $\pm$ 36	48400
DQOf (mg/L)	196 $\pm$ 152	64 $\pm$ 55	65 $\pm$ 37	NA
NTK (mg/L)	65 $\pm$ 7	49 $\pm$ 7	42 $\pm$ 11	325
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	45 $\pm$ 10	44 $\pm$ 9	36 $\pm$ 7	313
N-NO <sub>3</sub> (mg/L)	1,5 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,3	0,9 $\pm$ 0,3	3,9
N-NO <sub>2</sub> (mg/L)	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	0,1 $\pm$ 0,0	6,3
ST (mg/L)	631 $\pm$ 111	455 $\pm$ 53	445 $\pm$ 74	61400
SF (mg/L)	221 $\pm$ 100	184 $\pm$ 46	190 $\pm$ 46	16866
SV (mg/L)	410 $\pm$ 137	271 $\pm$ 83	271 $\pm$ 50	44533
SST (mg/L)	323 $\pm$ 94	204 $\pm$ 106	167 $\pm$ 37	NA
SSF (mg/L)	204 $\pm$ 90	128 $\pm$ 49	92 $\pm$ 18	NA
SSV (mg/L)	119 $\pm$ 24	76 $\pm$ 58	75 $\pm$ 38	NA
pH	7,5 $\pm$ 0,1	7,0 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,2	NA

\* DQOf: DQO da amostra filtrada; NA – Não analisada.

\*\* 1A – Calha Parshall (afluente); 2A – efluente do RALF (intermediária); 3A – Efluente do filtro anaeróbio (efluente); EA - Escuma.

Fonte: a autora.

Analisando a Tabela 3 podemos observar que os maiores valores para DQO são das amostras que correspondem ao esgoto apenas com o tratamento preliminar (amostras 1A). A remoção da matéria orgânica ocorre quando começam os mecanismos biológicos, nesse caso a partir do RALF. Ao analisar a amostra referente ao efluente do filtro anaeróbio da ETE ANA (amostra 3A) pode-se dizer que a ETE ANA apresentou eficiência na remoção de DQO de 36 a 87%. As menores eficiências foram observadas nos meses de outubro e fevereiro, 36 e 37% respectivamente.

Observa-se na Tabela 3 que as concentrações de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para o efluente do filtro anaeróbio da ETE ANA, amostras 3A, variaram de 29 a 46 mg L<sup>-1</sup>. Uma diferença importante entre sistemas biológicos aeróbios e sistemas biológicos anaeróbios utilizados para tratamento de efluentes é que, nos sistemas aeróbios com TDH adequado, acima de 4 horas, pode haver processo de nitrificação, reduzindo assim, a concentração de N-NH<sub>4</sub>. Já nos sistemas anaeróbios a nitrificação não acontece. Então, comparando-se os resultados de concentração de N-NH<sub>4</sub> dos pontos de coleta

3 de ambas as ETEs, observa-se que na ETE LA a concentração de  $\text{N-NH}_4$  variou de 1 a 31  $\text{mg L}^{-1}$ , já na ETE ANA a concentração de  $\text{N-NH}_4$  variou de 29 a 46  $\text{mg L}^{-1}$ .

A amostra EA, utilizada no Ensaio 2 ANA é a espuma do RALF. Segundo Ross et al. (2016), a espuma dos reatores é formada por materiais flutuantes que ficam na superfície do UASB e que não foram degradados. Assim, a quantidade de sólidos presentes na espuma está diretamente associada as concentrações de DQO e NTK, conforme observado na Tabela 3.

Pode-se dizer que houve oscilação nas concentrações das amostras da ETE ANA coletada nos diferentes períodos. Isso ocorre porque no processo de amostragem as situações ambientais podem interferir, como o regime pluviométrico e horário da coleta. Conforme já mencionado, também há possibilidade de mistura de esgoto não doméstico lançado clandestinamente na rede coletora da ETE ANA, o que pode se intensificar dependendo das atividades industriais e agrícolas na região o que pode afetar os valores de concentração nos parâmetros de estudo (POLAK, 2018).

Os resultados obtidos para os parâmetros do efluente da ETE ANA mostram-se um pouco distintos aos da ETE LA devido ao tipo de tratamento utilizado, o de lodos ativados. No sistema de lodos ativados, o processo de degradação da matéria orgânica ocorre por vias aeróbias (PAULA, *et al.*, 2018; SOARES, *et al.*, 2014; GOLDONI *et al.*, 2014) e na ETE ANA a degradação da matéria orgânica ocorre por processos anaeróbios, em um reator do tipo RALF.

Embora os resultados da caracterização se mostrem um pouco distintos aos da ETE LA as características físico-químicas apresentadas nas análises da ETE ANA, esse efluente se enquadra, de acordo com Metcalf & Eddy (1991), como um esgoto sanitário com características entre médio e forte.

A DQO é um dos parâmetros principais desse estudo, pois indica o potencial poluidor do efluente representado pela quantidade de oxigênio que se faz necessário para oxidar a matéria orgânica.

Assim como a DQO, as análises de nitrogênio nas variadas formas são extremamente relevantes pois, segundo Von Speerling (1996), a presença destes, indica fatores de poluição e, principalmente, toxicidade.

Nitrito e nitrato são importantes parâmetros a serem relacionados, pois fazem parte das formas de nitrogênio presentes no esgoto. Quando há forte presença de nitrato no efluente pode-se associar a contaminação da água por atividades agropecuárias (PINTO *et al.*, 2013). Além disso, o consumo de nitrato pode apresentar

um potencial risco à saúde, por uma enfermidade que consiste na incapacidade da fixação e disponibilização de oxigênio na corrente sanguínea, doença chamada de síndrome do bebê azul, devido ao fato de afetar, principalmente, bebês (ZOPPAS; BERNARDES; MENEGUZZI, 2016).

As análises da série de sólidos foram realizadas a fim de se refutar ou corroborar a hipótese de que a presença destes nas amostras possa impedir o desenvolvimento da raiz. Os dados da série revelam que em ambas ETE a concentração diminui gradativamente conforme o esgoto vai passando pelas etapas de tratamento.

## 5.2 RESULTADOS DOS ENSAIOS DE TOXICIDADE COM *A. cepa*

### 5.2.1 Toxicidade a partir do crescimento da raiz

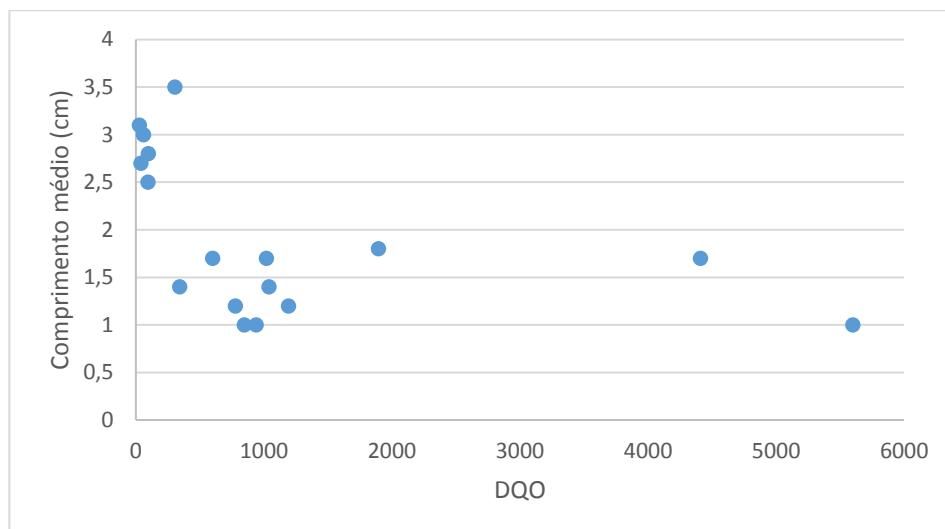
A toxicidade pode ser avaliada a partir da análise do crescimento e desenvolvimento aparente ou inibição do crescimento da raiz, após ficarem em contato com as amostras desse estudo.

Com relação ao comprimento das raízes entre os ensaios a diferença estatística foi observada para todas as amostras nos ensaios, conforme apresentado na Tabela 4. Podemos observar que para as raízes da amostra 1B, do efluente ainda não tratado, que os ensaios 1LA, 2LA e 3LA apresentaram-se estatisticamente iguais. O ensaio 5LA se apresentou estatisticamente igual ao ensaio 6LA, que por sua vez é igual ao ensaio 2LA. Podemos observar que no ensaio 4LA, além de se apresentar diferente estatisticamente dos demais, a quantidade de raízes é maior. Nesse ensaio, a menor concentração foi no parâmetro DQO. Podemos ressaltar que o efeito de baixas concentrações de poluentes ou contaminantes podem também potencializar o desenvolvimento da raiz.

A Figura 11 mostra a relação da DQO com o comprimento das raízes. Podemos observar que quando o valor na concentração de DQO se apresentou menor a maior parte das raízes tiveram seu comprimento mais desenvolvido.



**Figura 11** – Gráfico da DQO e crescimento médio das raízes da ETE LA.



Fonte: a autora

Para o crescimento da raiz na amostra 2B os ensaios 1LA e 5LA apresentaram-se estatisticamente iguais, sendo o ensaio 5LA igual ao ensaio 6LA. O ensaio 3LA apresentou-se igual estatisticamente aos ensaios 2LA e 4LA, que são iguais entre si.

Analisando a diferença estatística do crescimento da raiz nas amostras 1B por Duncan a 5% de probabilidade temos que nos ensaios 1LA e 3LA apresentam-se estatisticamente iguais ao crescimento da raiz nas amostras 2B dos ensaios 5LA e 6LA. O crescimento das raízes nas amostras 1B do ensaio 2LA apresentam-se estatisticamente iguais ao crescimento da raiz na amostra 2B nos ensaios 1LA, 5LA e 6LA. Já a amostra 1B do ensaio 4LA apresentou-se estatisticamente diferente de todos os outros ensaios. O crescimento da raiz na amostra 1B do ensaio 5LA apresenta-se estatisticamente igual ao crescimento da raiz na amostra 2B dos ensaios 1LA, 2LA, 3LA e 4LA. O crescimento da raiz da amostra 1B no ensaio 6LA apresentou-se estatisticamente igual ao crescimento da raiz na amostra 2B dos ensaios 1LA, 2LA, 4LA e 5LA.

Pode-se atribuir a maior parte do efeito tóxico observado no crescimento da raiz das amostras 1B e 2B à presença de substâncias tóxicas e altas concentrações de poluentes.

**Tabela 4** – Comprimento em cm das raízes de *A. cepa* das Estações de Tratamento LA e ANA nos ensaios (média  $\pm$  desvio padrão)

<b>ETE LA</b>						
<b>Amostras</b>	<b>1LA</b>	<b>2LA</b>	<b>3LA</b>	<b>4LA</b>	<b>5LA</b>	<b>6LA</b>
<b>1B</b>	1,0 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	1,2 $\pm$ 0,9 <sup>ab</sup>	1,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 1,3 <sup>d</sup>	1,7 $\pm$ 1,4 <sup>c</sup>	1,4 $\pm$ 1,1 <sup>bc</sup>
<b>2B</b>	1,4 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 1,3 <sup>bc</sup>	1,8 $\pm$ 1,4 <sup>c</sup>	1,7 $\pm$ 1,4 <sup>bc</sup>	1,2 $\pm$ 0,8 <sup>ad</sup>	1,0 $\pm$ 0,7 <sup>d</sup>
<b>3B</b>	2,8 $\pm$ 1,8 <sup>abc</sup>	2,5 $\pm$ 1,6 <sup>c</sup>	2,6 $\pm$ 1,6 <sup>c</sup>	3,1 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,8 <sup>ab</sup>	2,7 $\pm$ 1,7 <sup>bc</sup>
<b>ETE ANA</b>						
<b>Amostras</b>	<b>1 ANA</b>	<b>2 ANA</b>	<b>3 ANA</b>	<b>4 ANA</b>		
<b>1A</b>	1,3 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	1,1 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	1,4 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>		
<b>2A</b>	3,2 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	2,1 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup>	3,1 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>		
<b>3A</b>	2,7 $\pm$ 2,0 <sup>a</sup>	2,1 $\pm$ 1,6 <sup>b</sup>	2,4 $\pm$ 1,4 <sup>ab</sup>	2,2 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>		

\*médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma linha pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Com relação ao crescimento das raízes da ETE ANA, pelo teste de Duncan a 5%, pode-se dizer que houve inibição quanto ao crescimento da raiz somente para a amostra 1A que é referente a amostra do desarenador e igual ao controle positivo (Tabela 5). Pode-se observar na Figura 12 que o crescimento foi irregular em todos os ensaios para a amostra 1A, porém, estatisticamente, não apresentou diferença entre os ensaios, conforme observado na Tabela 4. O crescimento das raízes nas amostras 2A para os ensaios 1ANA e 4ANA se apresentaram iguais entre si, mas diferente dos ensaios 2ANA e 3ANA que são também iguais entre si (Tabela 4). Para o crescimento das raízes nas amostras 3A os ensaios 1ANA e 3ANA se apresentaram iguais estatisticamente sendo o ensaio 3ANA igual aos ensaios 2ANA e 4ANA que por sua vez são iguais entre si.

Em uma comparação da amostra de efluente 1A com as demais nos diferentes ensaios temos que o crescimento da raiz nessa amostra no ensaio 1ANA, 2 ANA, 3ANA e 4 ANA se apresentou diferente de todos os outros (Duncan a 5% de probabilidade).

Na Tabela 5 são mostrados os resultados obtidos para os bulbos expostos às amostras das ETES ANA e LA.

**Tabela 5** – Comprimento mínimo, máximo e médio, em cm, das raízes de *A. cepa* das Estações de Tratamento LA e ANA (média de todos os ensaios  $\pm$  desvio padrão)

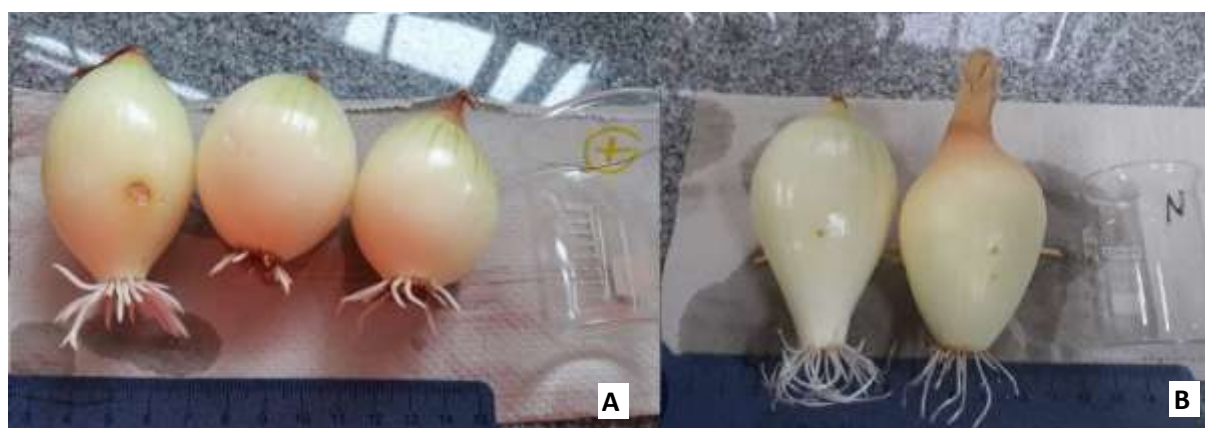
<b>ETE LA</b>					
<b>Crescimento (cm)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b>1B</b>	<b>2B</b>	<b>3B</b>
Mínimo	0,5 <sup>b</sup>	0,3 <sup>b</sup>	0,6 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
Máximo	3,0 <sup>b</sup>	1,5 <sup>c</sup>	2,5 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	2,6 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	4,5 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
Médio	1,8 <sup>b</sup>	0,9 <sup>c</sup>	1,9 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	1,5 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	2,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b>ETE ANA</b>					
<b>Crescimento (cm)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b>1A</b>	<b>2A</b>	<b>3A</b>
Mínimo	0,5 <sup>bc</sup>	0,3 <sup>c</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	0,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	0,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
Máximo	3,0 <sup>bc</sup>	1,5 <sup>d</sup>	2,3 $\pm$ 0,5 <sup>cd</sup>	4,3 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	3,9 $\pm$ 0,5 <sup>ab</sup>
Médio	1,8 <sup>bc</sup>	0,9 <sup>d</sup>	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>cd</sup>	2,6 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>

\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; 1B – Desarenador; 2B – Tanque de aeração; 3B – Decantador secundário; 1A – Desarenador; 2A – RALF; 3A – Efluente do filtro anaeróbio.

\*\*médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma linha pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Na observação dos controles (Figura 12) podemos destacar que as raízes do controle positivo, além de terem crescimento menor no sentido do comprimento, tiveram desenvolvimento superior da espessura. Lembrando que o controle positivo foi feito com Trifuralina e o negativo com água destilada.

**Figura 12** – Raízes dos controles positivo (A), com Trifuralina, e negativo (B), com água.



Fonte: a autora.

Pela análise do comprimento das raízes dos ensaios com amostras da ETE LA, utilizando teste de Duncan a 5% de probabilidade, pode-se dizer que houve um desenvolvimento maior das raízes expostas às amostras 3B. O crescimento médio das raízes das amostras 1B e 2B não demonstram diferença estatística com o controle

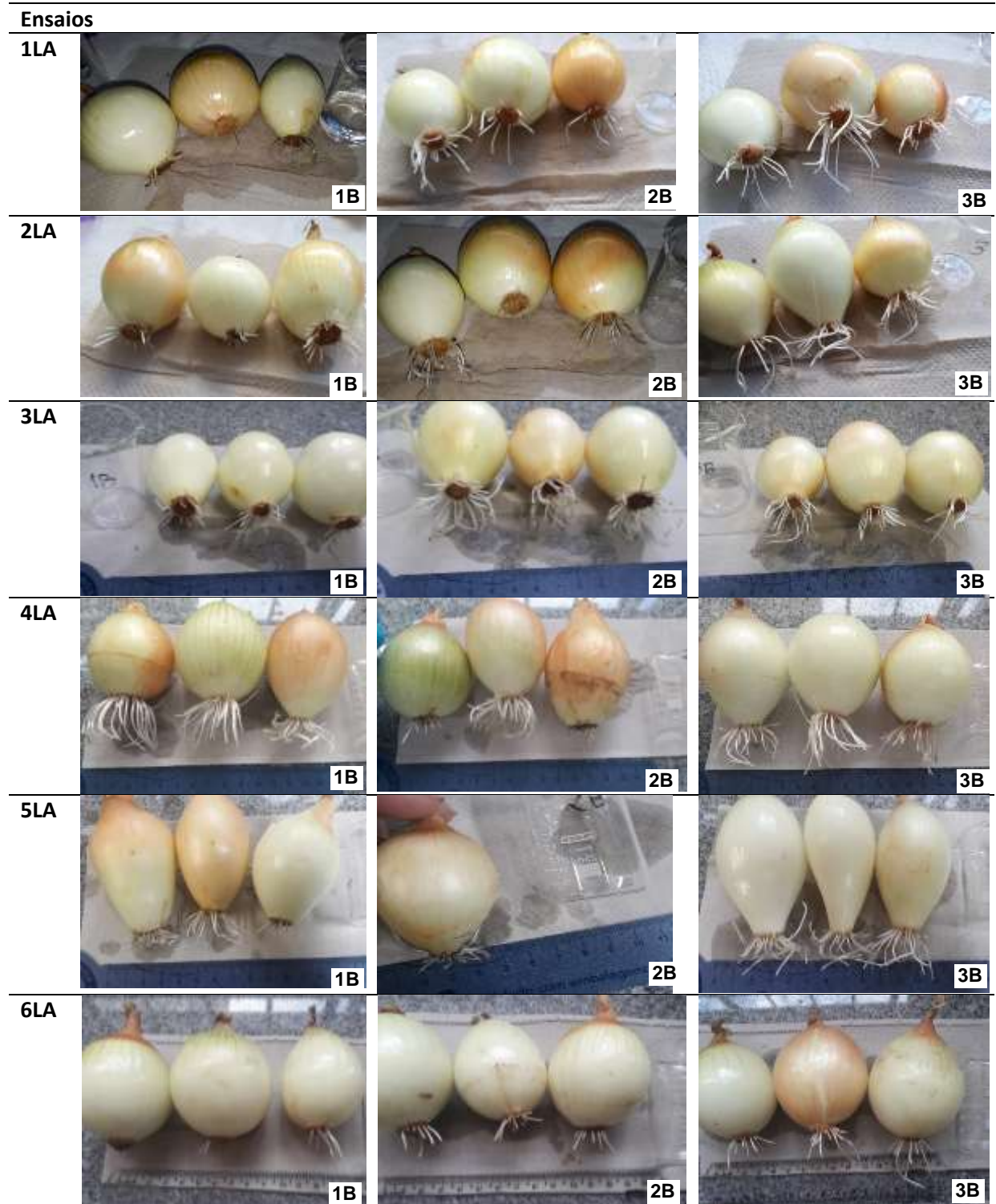
negativo, o que difere é a quantidade de raízes crescidas. Porém, a análise fenotípica (aparência das raízes) se apresentou de maneira distinta para essas amostras citadas como podemos observar na Figura 13.

O crescimento das raízes nas amostras mostrou-se de forma irregular, alternando entre raízes levemente mais finas e mais grossas. As amostras 2B apresentaram crescimento, porém com a raiz escurecida devido à quantidade de sólidos presentes, que não impediram o crescimento em razão da sedimentação da maior parte destes no recipiente o qual continha a amostra. As raízes expostas às amostras 3B apresentaram crescimento maior das raízes, com coloração clara, e aspecto morfológico parecido com controle negativo (Figura 12).

Utilizando a correlação de Pearson para o crescimento da raiz na amostra 1B referente ao efluente do desarenador pode-se dizer que possui correlação inversamente proporcional significativa do crescimento da raiz com a variável DQO ( $r=-0,84$  e  $p<0,05$ ) indicando que quanto maior a DQO, menor o crescimento.

Para as amostras 2B e 3B não houve correlação significativa entre os parâmetros físico químicos dos esgotos e o crescimento da raiz.

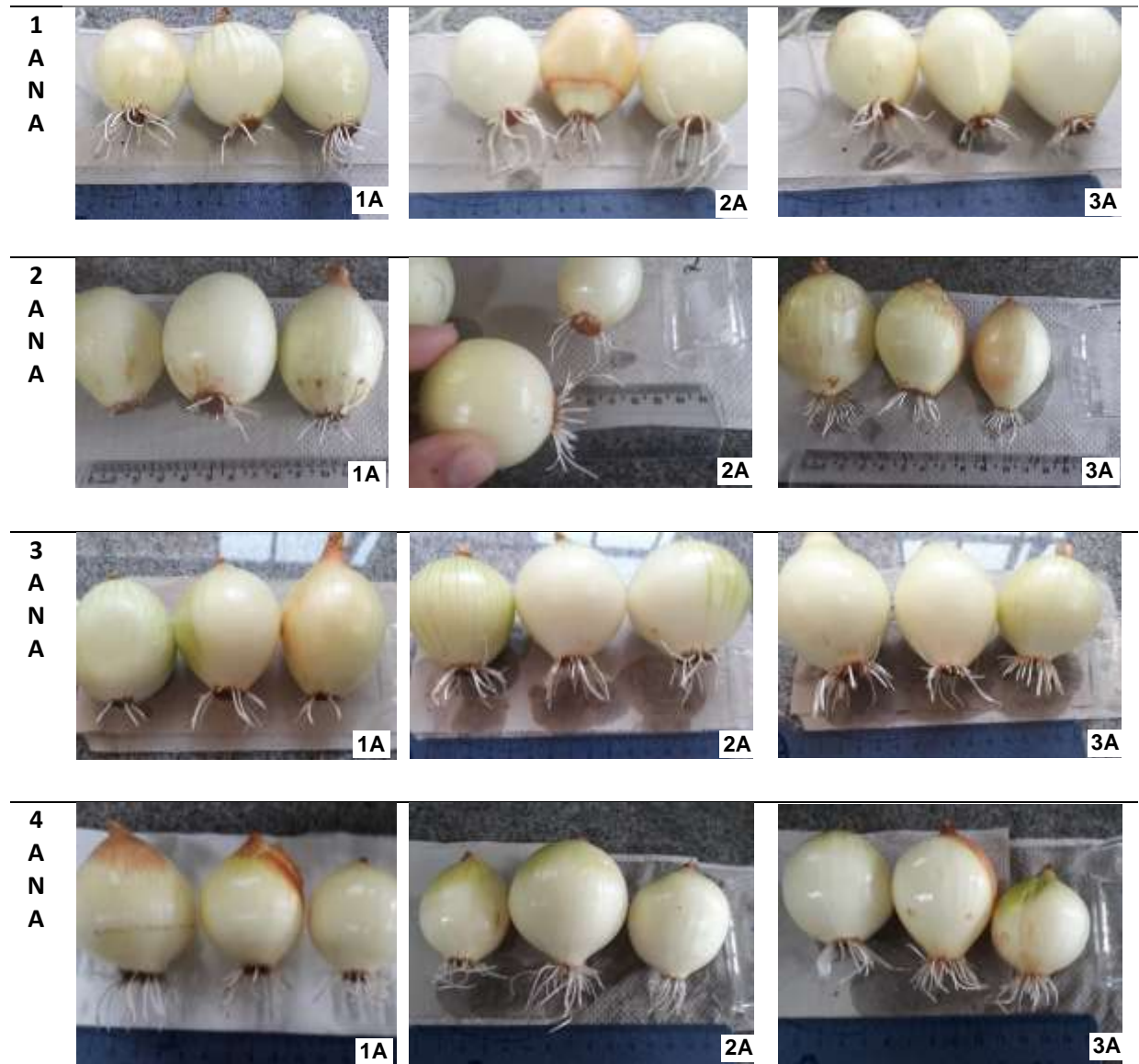
**Figura 13** – Fotos das raízes dos bulbos nos ensaios realizados com amostras da ETE LA: 1B – Desarenador, 2B – Tanque de aeração e 3B – Decantador secundário.



Fonte: a autora



**Figura 14** – Fotos das raízes dos bulbos nos ensaios realizados com amostras da ETE ANA: 1A – Desarenador, 2A – Efluente do RALF e 3A – Efluente do filtro.



Fonte: a autora

Podemos dizer que devido as altas concentrações de poluentes na amostra 1A a raiz da cebola teve o seu desenvolvimento afetado, já que se trata de uma amostra tratada com um processo preliminar, apenas.

Para as demais amostras o desenvolvimento da raiz não foi afetado significativamente. O comprimento ocorreu de acordo com o controle negativo (Figura 10), sendo a amostra 2, correspondente ao efluente do RALF, a mais desenvolvida.

Utilizando a correlação de Pearson para o crescimento da raiz as amostras 1A, 2A e 3A não apresentaram correlação que fosse significativa ( $p < 0,05$ ) com os parâmetros de análise físico-química.

#### 5.2.1.2 Análise do crescimento da raiz exposta à espuma da ETE ANA

A Tabela 6 apresenta os valores obtidos para o crescimento da raiz na amostra da espuma diluída.

**Tabela 6** – Comprimento das raízes de *A. cepa* da espuma não diluída e diluída 100x da ETE ANA

<b>Crescimento (cm)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b>E D</b>	<b>E ND</b>
Mínimo	0,5	0,3	0,4	0,0
Máximo	3	1,5	4	0,0
Médio	1,8	0,9	2,2	0,0

\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; E D – Espuma diluída; E ND – Espuma não diluída.

Com relação a exposição dos bulbos à espuma sem diluição pode-se atribuir alta toxicidade, pois não houve crescimento da raiz (Figura 15). Houve crescimento da raiz somente quando a espuma foi diluída, diminuindo assim concentração e a carga tóxica. Analisando o crescimento da raiz na espuma diluída (Tabela 6) o crescimento mínimo se apresentou entre os controles negativo e positivo, tendo um crescimento radicular médio maior quando em comparação aos controles.

As raízes crescidas na espuma diluída apresentaram-se mais escuras quando em comparação ao controle negativo. Deve-se ao fato de que a espuma mesmo quando diluída apresenta uma certa quantidade de sólidos e outros componentes que podem acarretar essa situação no desenvolvimento da raiz.

**Figura 15** – Fotos dos bulbos que foram expostos à espuma sem diluição (A), diluída x100 (B), controle positivo (C) e controle negativo (D).



Fonte: a autora.

Em um aspecto geral do crescimento das raízes nas amostras das ETEs e na espuma pode-se constatar que a inibição total do crescimento da raiz foi observada apenas no bulbo colocado na amostra da espuma da ETE ANA. Não foi observada inibição do crescimento da raiz nas outras amostras testadas. Um estudo semelhante realizado por Mazzeo *et al.* (2015) com lodo de esgoto, mostrou que quanto mais concentrada a amostra, mais tóxica pode ser considerada com relação ao desenvolvimento da raiz, que nesse caso foi testado em sementes de *A. cepa* que apresentaram inibição completa na germinação de sementes.

Já as raízes em contato com a espuma diluída apresentaram um bom crescimento, pois em determinadas concentrações os compostos presentes podem se mostrar benéficos, ou seja, baixas concentrações podem estimular o desenvolvimento da raiz (STEBBING, 1982). Embora a legislação ainda não permita Ross *et al.* (2016), trazem um estudo sobre a incorporação da espuma ao lodo de esgoto utilizado na agricultura já que agregam nutrientes necessários para o desenvolvimento vegetal.



Alguns compostos podem estar ligados aos índices que indicam toxicidade de forma geral como  $\text{N-NH}_3$ , metais pesados, produtos químicos orgânicos perigosos, como nitrosaminas, bifenilos policlorados (PCB), dibenzo- p policlorado-dioxinas e furanos (PCDD / F) e hidrocarbonetos poliaromáticos (PAH) (RANK; NIELSEN, 1998; MIELLI *et al.*, 2009), surfactantes, desinfetantes, amaciantes, outros tipos de detergentes e agrotóxicos que podem causar alguns danos e interferir diretamente também na citotoxicidade, genotoxicidade e mutações cromossômicas (LUTTERBECK *et al.*, 2018; CASTRO; SOUSA *et al.*, 2017).

Raízes que aparecem de forma atrofiada, pouco desenvolvidas, indicam que os compostos presentes nas amostras de esgoto ETE afetaram o desenvolvimento e crescimento da raiz, no entanto o crescimento excessivo pode indicar que houve indução no desenvolvimento celular podendo gerar consequências como a proliferação celular descontrolada, por exemplo, podendo apresentar efeito também no Índice Mitótico (IM), sendo inferiores ao controle negativo (LIMAN *et al.*, 2010).

Em um estudo de Singh *et al.* (2013) com água de rio contaminada com efluentes provenientes de indústrias trazem que a inibição do crescimento da raiz e proliferação celular se dá devido a presença de metais pesados e produtos químicos orgânicos.

#### 5.2.1.3 Análise do crescimento da raiz exposta às soluções de cloreto de amônio e nitrato de sódio

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados obtidos do crescimento das raízes nas soluções de cloreto de amônio e nitrato de sódio. Essas soluções foram preparadas a fim de simular em laboratório a ação desses compostos quanto a toxicidade, sendo que estes geralmente são bem presentes em amostras de esgoto.

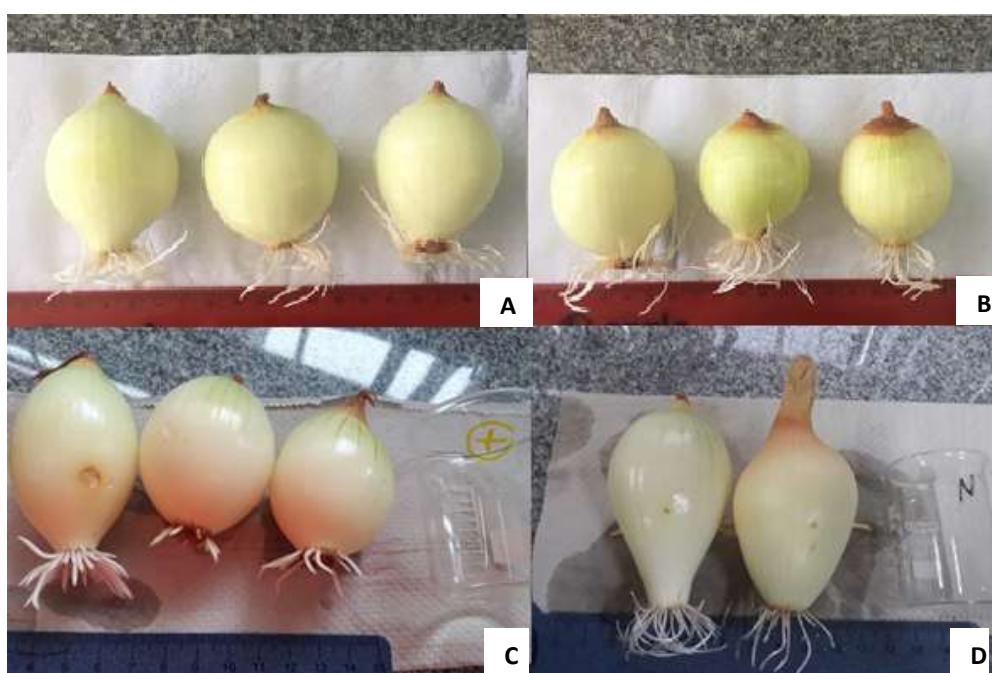
**Tabela 7** – Comprimento das raízes de *A. cepa* nas soluções de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e  $\text{NaNO}_3$ .

<b>Crescimento (cm)</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>	<b><math>\text{NaNO}_3</math></b>	<b><math>\text{NH}_4\text{Cl}</math></b>
Mínimo	0,5	0,3	0,7	0,5
Máximo	3	1,5	4,5	4,0
Médio	1,8	0,9	2,6	2,3

\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo

Analizando o crescimento da raiz expostos às soluções de nitrato de sódio e cloreto de amônio em comparação com os controles (Figura 15) podemos observar que houve uma indução quanto ao comprimento, apresentando-se maior que CP e CN, como ocorreu também quando em contato com a espuma diluída. Esses resultados podem indicar que nessa concentração esses compostos podem induzir o crescimento da raiz, porém ainda se faz necessário análise microscópica, além da observação.

**Figura 16** – Fotos dos bulbos que foram expostos à solução de cloreto de amônio (A), nitrato de sódio (B), controle positivo (C) e controle negativo (D).



Fonte: a autora.

## 5.2.2 Análise microscópica das raízes

A análise microscópica das raízes foi realizada a partir da observação em um microscópio óptico, fotografadas na objetiva de 40x para então prosseguir com a contagem de células. Foram analisadas 1000 células por lâmina preparada, totalizando 3000 por amostra em cada ensaio.

### 5.2.2.1 Análise microscópica das raízes das ETEs LA e ANA

A Tabela 8 traz os dados que definem o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico nos bulbos de *A. cepa* submetidos ao crescimento em amostras da ETE ANA e ETE LA em comparação com os controles negativo e positivo.

**Tabela 8** – Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para as ETEs (média  $\pm$  desvio padrão).

Amostra	Índice Mitótico (IM) (%)	Índice de Aberração Cromossômica (IAC) (%)	Índice de Mutagenicidade (Imut) (%)
<b>ETE LA</b>			
<b>CN</b>	12,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>
<b>CP</b>	9,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b>1B</b>	9,5 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,7 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
<b>2B</b>	9,6 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>	0,5 $\pm$ 0,5 <sup>c</sup>	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>
<b>3B</b>	11,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,5 <sup>d</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>d</sup>
<b>ETE ANA</b>			
<b>CN</b>	12,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>
<b>CP</b>	9,6 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b>1A</b>	9,3 $\pm$ 0,4 <sup>c</sup>	0,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
<b>2A</b>	10,8 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,0 <sup>bc</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>
<b>3A</b>	10,4 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>c</sup>

\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; 1B – Desarenador; 2B – Tanque de aeração; 3B – Decantador secundário, 1A – Calha Parshall; 2A – RALF; 3A – Efluente do filtro anaeróbio.

\*\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

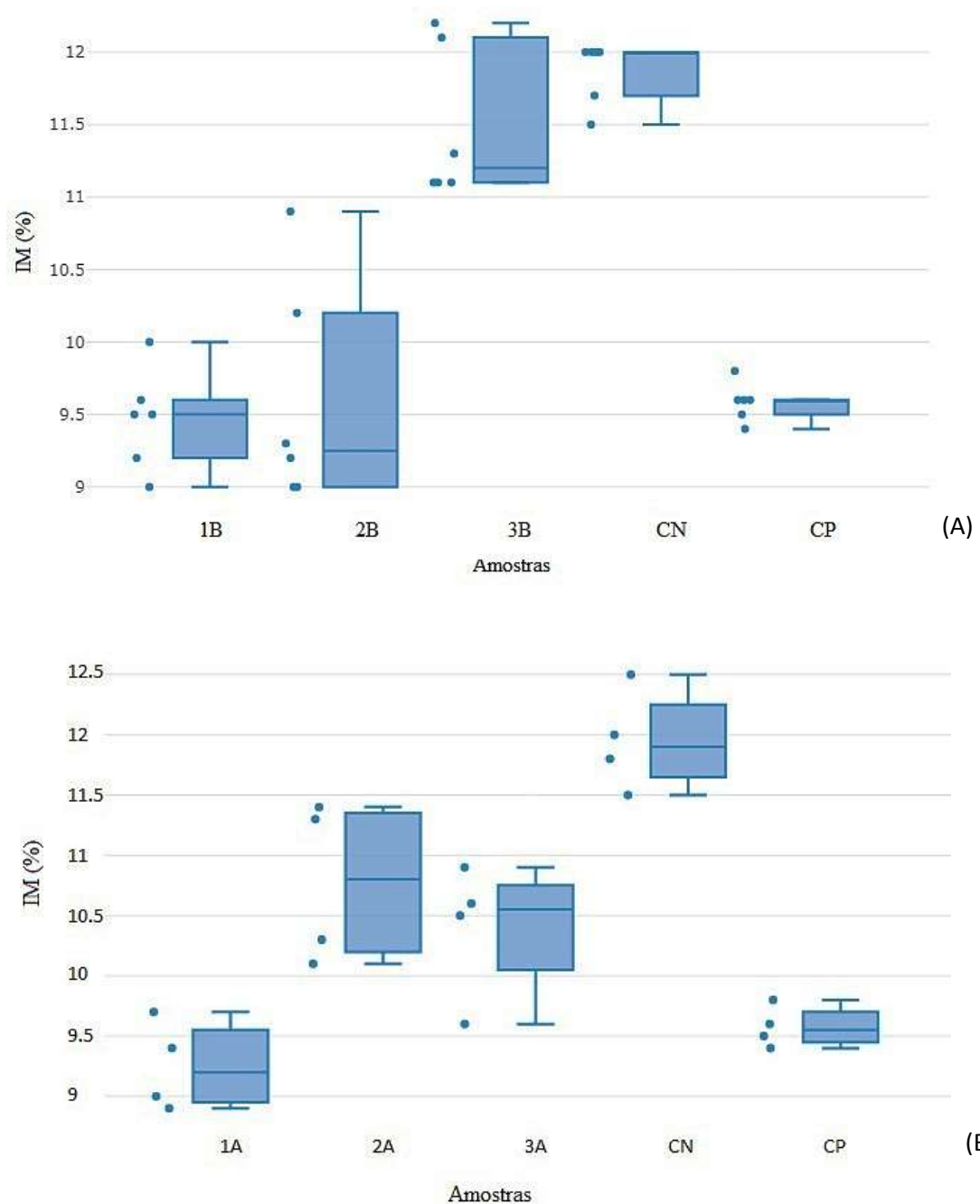
Aplicando o teste de Shapiro-Wilk temos que a um nível de 5% de significância os dados se ajustam a uma distribuição normal.

De acordo com o teste de Duncan a 5% de probabilidade para IM da ETE LA, a amostra 1B referente ao desarenador e 2B do tanque de aeração não diferem estatisticamente do controle positivo indicando que o efluente relacionado a essas amostras é considerado citotóxico. Já a amostra 3B correspondente ao efluente do decantador secundário é diferente do controle positivo e não exprime diferença estatística com o controle negativo, apontando um efluente que não é classificado como citotóxico, diferente de 1B e 2B.

Analisando os resultados da ETE ANA para IM temos que a amostra 1A, que corresponde ao efluente coletado na calha parshall se mostrou igual ao controle positivo. As amostras 2A, da saída do RALF e 3A, referente à saída da ETE, são diferentes do controle negativo e diferentes também do controle positivo (Duncan a 5% de probabilidade). De acordo com os dados obtidos pelas análises estatísticas, o efluente considerado citotóxico para as células de *A. cepa* da ETE ANA foi o efluente coletado na calha parshall.

A Figura 17 representa os índices mitóticos da ETE LA e os índices mitóticos da ETE ANA.

**Figura 17** – Gráfico box plot para % de ÍM das ETEs LA (A) e ANA (B).



1B= Desarenador; 2B= Tanque de Aeração; 3B= Efluente do decantador secundário; 1A= Calha Parshall; 2A= RALF; 3A= Efluente do filtro, CN= controle negativo, CP= controle positivo.

Fonte: a autora.

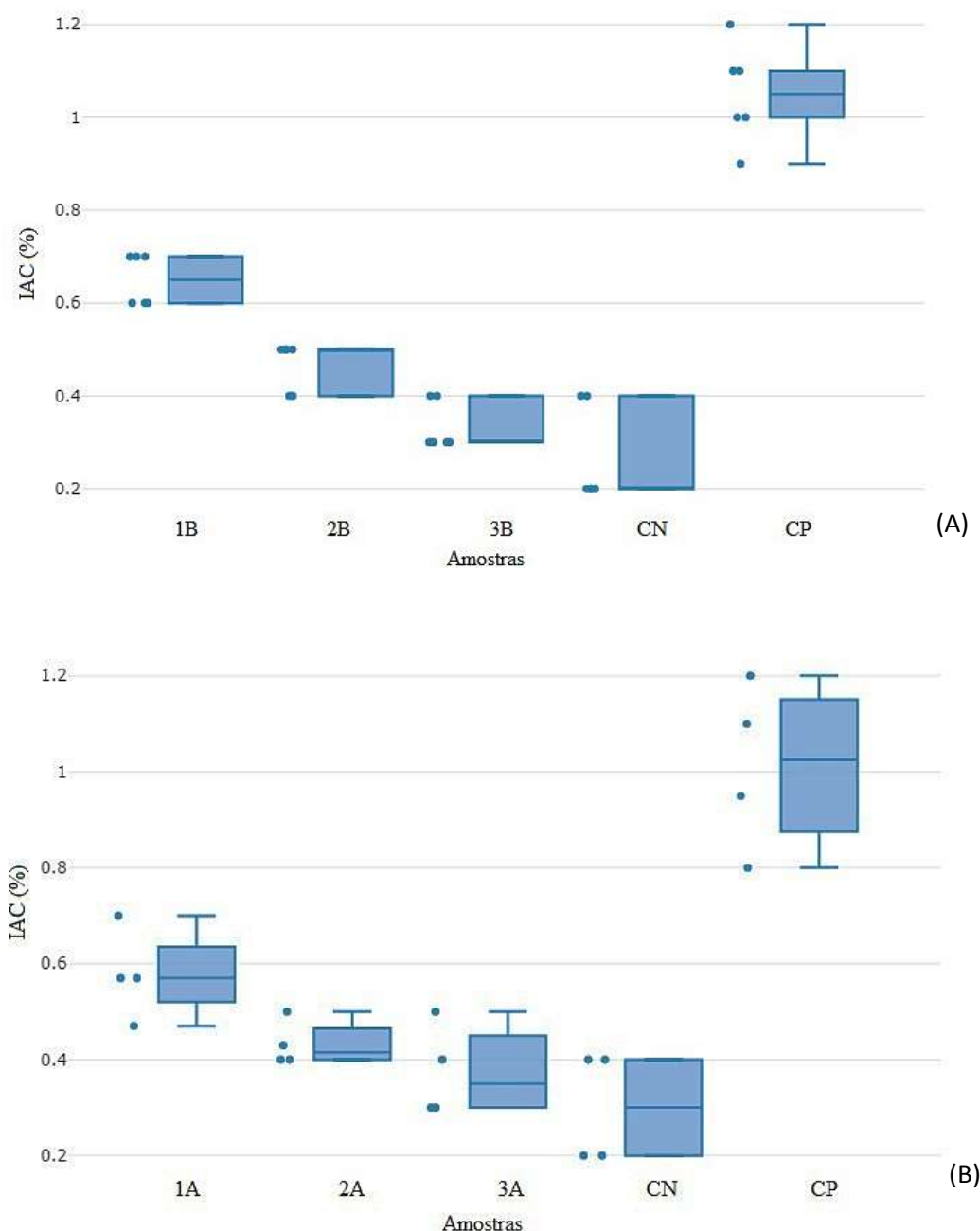
No que se refere aos índices de aberrações cromossômicas, seguido pelo mesmo teste citado anteriormente, temos que o índice obtido para as amostras da ETE LA, do Desarenador (1B) e Tanque de aeração (2B), são estatisticamente diferentes de CN e de CP. O índice obtido para a amostra referente ao decantador

secundário (3B) é significativo quando comparado ao IAC do controle positivo e não apresenta diferença estatística quando comparado ao controle negativo. Assim sendo, verificamos que o efluente final (3B) da ETE LA não é considerado genotóxico.

Para o Índice de Aberrações Cromossômicas da ETE ANA, feito a partir do mesmo teste, temos que todas as amostras são estatisticamente diferentes do IAC do controle positivo. Em comparação com o controle negativo temos que a amostra 1A (calha parshal) apresentou diferença estatística de CN. Já a amostra 2A, referente ao RALF, e 3A, efluente do filtro, não apresentaram diferença estatística com relação ao controle negativo. Desse modo, as amostras da ETE ANA que induziram alguma aberração nas células das raízes da cebola foi a amostra 1A. Podemos considerar, quanto à redução da genotoxicidade, que a ETE ANA apresentou-se de maneira eficaz, sendo a amostra 3A igual ao controle negativo.

A Figura 18 ilustra os índices de aberrações cromossômicas obtidos para as ETEs LA e ANA.

**Figura 18** – Gráfico box plot para % de IAC das ETEs LA (A) e ANA (B).



1B= Desarenador; 2B= Tanque de Aeração; 3B= Efluente do decantador secundário; 1A= Calha Parshall; 2A= RALF; 3A= Efluente do filtro, CN= controle negativo, CP= controle positivo.  
Fonte: a autora.

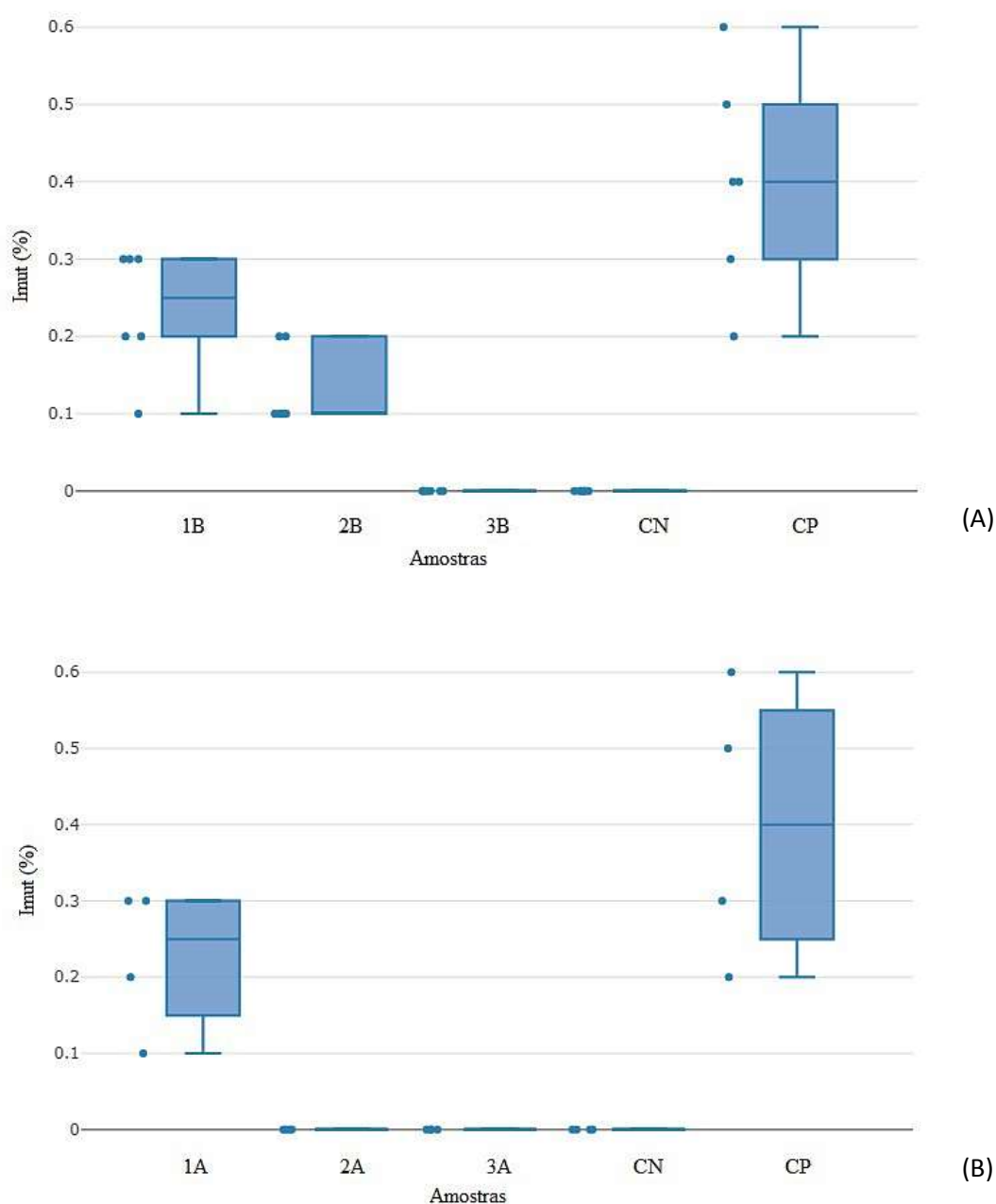
Sobre o índice de mutagenicidade dos bulbos submetidos as amostras da ETE LA, seguindo o mesmo teste estatístico, temos que 1B e 2B são estatisticamente diferentes dos controles negativo e positivo. O índice de mutagenicidade obtido para 3B apresentou-se diferente significativamente do controle positivo e não teve diferença do controle negativo. Dessa forma, podemos dizer que o efluente final da ETE LA não é considerado mutagênico.

O mesmo teste foi aplicado quanto aos índices de mutagenicidade para a ETE ANA. Todas as amostras apresentaram diferença estatística com relação ao controle positivo. Para a amostra 1A, do efluente do desarenador, há diferença estatística com relação ao controle negativo. Na amostra 2A, correspondente ao efluente do RALF com relação a CN não teve significância. A amostra 3A, saída da ETE não apresentou diferença significativa com o controle negativo. Pode-se dizer que o efluente de saída da ETE ANA não apresenta características mutagênicas.

A Figura 19 representa os índices de mutagenicidade das ETEs LA e ANA.



**Figura 19** – Gráfico box plot para porcentagem (%) de mutagenicidade das ETEs LA (A) e ANA (B).



1B= Desarenador; 2B= Tanque de Aeração; 3B= Efluente do decantador secundário; 1A= Calha Parshall; 2A= RALF; 3A= Efluente do filtro, CN= controle negativo, CP= controle positivo.  
Fonte: a autora.

Os ensaios com os bulbos de *A. cepa* foram realizados em datas diferentes a fim de verificar diferença entre eles. Pôde ser observado durante o processo de análise e contagem uma pequena variação, que é apresentada na Tabela 9.

Para os ensaios em que não aparece as letras do teste de comparação, não foi observado diferença estatística entre eles.

**Tabela 9** – Índices obtidos para as amostras das ETEs LA e ANA nos ensaios realizados (média  $\pm$  desvio padrão).

Amostra	Ensaio	IM (%)	IAC (%)	Imut (%)
<b>ETE LA</b>				
<b>1B</b>	1LA	10,0 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,7 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
	2LA	9,1 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,6 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1
	3LA	9,2 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	0,7 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1
	4LA	9,6 $\pm$ 0,3 <sup>ab</sup>	0,7 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1
	5LA	9,5 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>	0,8 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1
	6LA	9,5 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>	0,7 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
<b>2B</b>	1LA	9,3 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	0,5 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1
	2LA	10,2 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
	3LA	10,9 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
	4LA	9,0 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	0,5 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
	5LA	9,0 $\pm$ 0,1 <sup>d</sup>	0,5 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1
	6LA	9,2 $\pm$ 0,2 <sup>d</sup>	0,6 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1
<b>3B</b>	1LA	11,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	2LA	12,1 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	3LA	12,2 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	4LA	11,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	5LA	11,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	6LA	11,2 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
<b>ETE ANA</b>				
<b>1A</b>	1ANA	9,4 $\pm$ 0,4 <sup>ab</sup>	0,6 $\pm$ 0,1	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
	2ANA	9,7 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,5 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
	3ANA	8,9 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,6 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup>
	4ANA	9,0 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>	0,7 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
<b>2A</b>	1ANA	11,3 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	2ANA	11,4 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,2	0,0 $\pm$ 0,0
	3ANA	10,3 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	4ANA	10,1 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	0,5 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
<b>3A</b>	1ANA	9,6 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	2ANA	10,9 $\pm$ 0,7	0,4 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	3ANA	10,5 $\pm$ 0,4	0,3 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0
	4ANA	10,6 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,1	0,0 $\pm$ 0,0

\*1B – Desarenador; 2B – Tanque de aeração; 3B – Decantador secundário, 1A – Calha Parshall; 2A – RALF; 3A – Saída ETE.

\*\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna, em cada amostra, pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade temos que para os ensaios da amostra 1B da ETE LA o IM variou, sendo o ensaio 1LA estatisticamente diferente dos

ensaios 2LA e 3LA mas ambos iguais aos ensaios 4LA, 5LA e 6LA. Para o IAC e Imut dessa mesma amostra não houveram diferença significativa entre os ensaios.

Para os ensaios da amostra 2B da ETE LA temos que o IM do ensaio 1LA se apresentou diferente de todos os outros na mesma amostra, bem como o IM dos ensaios 2LA e 3LA. Para os demais índices nessa amostra não houve diferença significativa.

Para a amostra 3B os ensaios 1LA, 4LA, 5LA e 6LA apresentaram-se estatisticamente iguais entre si, sendo diferentes dos ensaios 2LA e 3LA que por sua vez são iguais entre si. Para os demais índices nessa amostra não houve diferença significativa.

Para os ensaios da amostra 1A da ETE ANA temos que o ensaio 2ANA é estatisticamente igual ao ensaio 1ANA, sendo este igual aos ensaios 3ANA e 4ANA. Para o IAC não houve diferença estatística entre os ensaios. Já para Imut o ensaio 1ANA mostrou-se igual ao ensaio 3ANA que também é igual aos ensaios 2ANA e 4ANA.

Os ensaios 1ANA e 2ANA se mostraram diferentes estatisticamente dos ensaios 3ANA e 4ANA na amostra 2A. Para os demais índices nessa mesma amostra não houve diferença significativa. Na amostra 3A não houve diferença significativa entre os índices nos ensaios.

#### 5.2.2.2 Análise microscópica da espuma da ETE ANA

A Tabela 10 traz os dados que definem o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico nos bulbos de *A. cepa* submetidos ao crescimento na amostra da espuma da ETE ANA.

A análise microscópica dessa etapa só foi possível com as raízes que cresceram na espuma diluída, já que a espuma sem diluição se mostrou com características físico-químicas bastante elevadas, sendo as maiores concentrações. Assim, não foi observado crescimento da raiz na espuma bruta.

**Tabela 10** – Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para a espuma da ETE ANA diluída 100 x (média  $\pm$  desvio padrão).

<b>Amostra</b>	<b>Índice Mitótico (IM) (%)</b>	<b>Índice de Aberração Cromossômica (%)</b>	<b>Índice de Mutagenicidade (%)</b>
<b>CN</b>	12,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>
<b>CP</b>	9,6 $\pm$ 0,1 <sup>c</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b>E</b>	10,4 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	1,0 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>

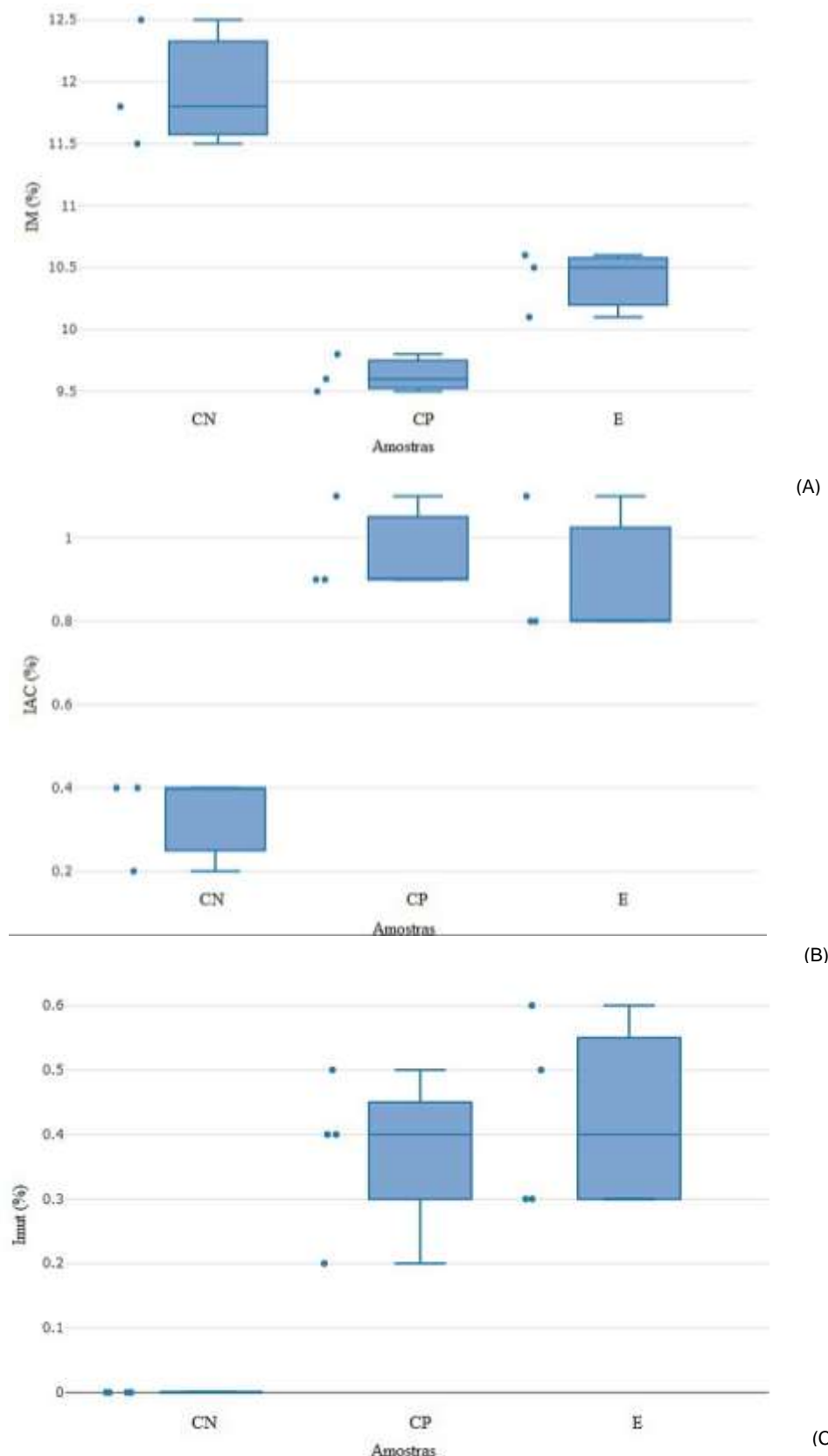
\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo; E – Espuma da ETE ANA diluída.

\*\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Aplicando o teste de Shapiro-Wilk temos que a um nível de 5% de significância os dados se ajustam a uma distribuição normal. De acordo com o teste de Duncan a 5% de probabilidade para o índice mitótico da amostra da espuma diluída temos que é diferente do controle negativo e do controle positivo, apresentando um IM intermediário entre os controles. Com relação ao índice de aberrações cromossômicas a amostra da espuma diluída se mostrou diferente do controle negativo e igual ao controle positivo, bem como o índice de mutagenicidade que se apresentou igual a CP. Assim, pode-se dizer que a amostra da espuma diluída é considerada genotóxica e mutagênica, em comparação com os controles.

A Figura 20 representa os valores obtidos para IM, IAC e Imut da espuma diluída em comparação aos controles.

**Figura 20** – Gráfico box plot para porcentagem de índice mitótico (A), índice de aberrações cromossômicas (B) e mutagenicidade (C) da espuma diluída 100x da ETE ANA.



E= Escuma diluída; CN= controle negativo; CP= controle positivo.  
Fonte: a autora.

### 5.2.2.2 Análise microscópica das raízes nas soluções de $\text{NH}_4\text{Cl}$ e $\text{NaNO}_3$

A Tabela 11 traz os dados que definem o potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico nos bulbos de *A. cepa* submetidos ao crescimento nas soluções de cloreto de amônio e nitrato de sódio.

**Tabela 11** – Determinação do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico obtidos para as soluções de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e  $\text{NaNO}_3$  (média  $\pm$  desvio padrão).

Amostra	Índice Mitótico (IM) (%)	Índice de Aberração Cromossômica (%)	Índice de
			Mutagenicidade (%)
<b>CN</b>	12,0 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,3 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>
<b>CP</b>	9,6 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	1,1 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>
<b><math>\text{NH}_4\text{Cl}</math></b>	8,7 $\pm$ 0,6 <sup>c</sup>	0,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	0,07 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>
<b><math>\text{NaNO}_3</math></b>	8,6 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,1 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>

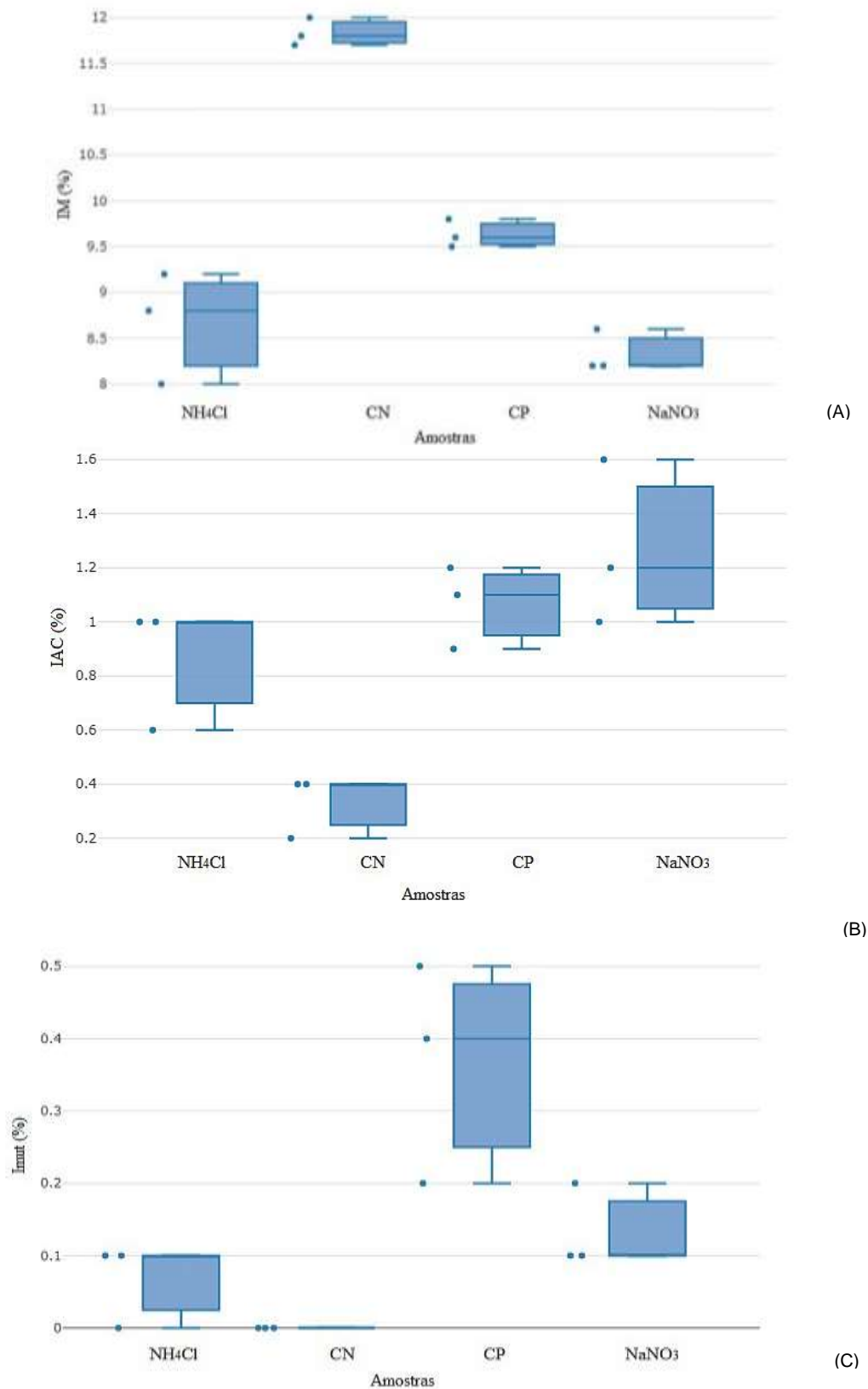
\*CN – Controle negativo; CP – Controle positivo;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – Cloreto de amônio;  $\text{NaNO}_3$  – Nitrato de sódio.

\*\*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si na mesma coluna pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

Aplicando o teste de Shapiro-Wilk temos que a um nível de 5% de significância os dados se ajustam a uma distribuição normal. De acordo com o teste de Duncan a 5% de probabilidade para o índice mitótico das células das raízes expostas as soluções de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e  $\text{NaNO}_3$  temos que ambas se apresentaram diferente do controle negativo e do controle positivo, apresentando um IM menor que os controles. Com relação ao índice de aberrações cromossômicas das raízes em contato com as soluções se mostraram diferente do controle negativo e iguais ao controle positivo, sendo então consideradas genotóxicas. Já para a mutagenicidade  $\text{NH}_4\text{Cl}$  mostrou-se igual a CN e diferente de CP e  $\text{NaNO}_3$  igual estatisticamente aos controles. Assim, pode-se dizer que  $\text{NH}_4\text{Cl}$  nessa concentração não é considerado mutagênico.

A Figura 21 representa os valores obtidos para IM, IAC e Imut das soluções em comparação aos controles.

**Figura 21** – Gráfico box plot para porcentagem de índice mitótico (A), índice de aberrações cromossômicas (B) e mutagenicidade (C) no eixo X e no eixo Y as amostras com  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e  $\text{NaNO}_3$ .



$\text{NH}_4\text{Cl}$ =cloreto de amônio;  $\text{NaNO}_3$ =nitrato de sódio; CN= controle negativo, CP= controle positivo.  
Fonte: a autora.

Pode-se dizer que as amostras que mais induziram aberrações celulares em células de *A. cepa* foi da espuma diluída seguida por  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e algumas alterações nas amostras de entrada das ETEs. Pode-se atribuir essa alteração devido à concentração de poluentes presentes nessas amostras que podem não estar descritos nesse estudo.

Cabe ressaltar que os efeitos tóxicos apontados nessa pesquisa podem ser causados por substâncias não identificadas pelas análises realizadas. Radić *et al.* (2010), em um estudo com *Allium cepa* para águas residuais e superficiais, também sugeriram que os efeitos tóxicos identificados podem estar ligados a outros componentes não identificados no estudo.

Podemos alegar que para o índice de mutação em células de *A. cepa* o efluente com capacidade mutagênica é a amostra da espuma seguida pela amostra 1A, correspondente ao esgoto bruto.

Pode-se atribuir alguma toxicidade nos resultados devido à quantidade de matéria orgânica e nitrogenada da espuma e do esgoto bruto (Tabela 13).

A correlação de Pearson, coeficiente representado pela letra  $r$ , pode assumir valores entre -1 e 1. Quando a correlação se apresenta negativa entre as variáveis quer dizer que são inversamente relacionadas. Quando a correlação se apresenta positiva significa que as variáveis são diretamente relacionadas. As correlações consideradas fortes para esse estudo assumem valores entre 0,7 e 0,9, positivo ou negativo.

As matrizes com os valores de correlação entre as variáveis desse estudo e os índices de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade para as amostras da ETE ANA estão apresentados na Tabela 12.

Para as amostras da ETE ANA temos correlação significativa apenas entre 2A entre NTK e IAC ( $r=-0,988$  e  $p<0,05$ ). Para os demais parâmetros relacionados a toxicidade a correlação não se apresentou significativa ( $p>0,05$ ).

Outras correlações consideradas de moderadas a fortes foram estabelecidas. Para a amostra 1A a correlação entre IM e IAC e IM e Imut se apresentaram negativas, indicando que quanto maior o IM menor o IAC e Imut. Para a mesma amostra correlações negativas também foram estabelecidas entre NTK e SV com IAC e correlação positiva entre SF e IAC, sendo diretamente relacionadas. Para a amostra 2A as correlações se apresentaram negativas entre IM, DQO, NTK,  $\text{N-NH}_4^+$  e ST com



IAC. Para a amostra 3A correlações negativas foram estabelecidas entre IAC e NTK, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e entre ST e SF com IAC.

**Tabela 12** – Matrizes de correlação entre IAC, Imut e IM da ETE ANA e os parâmetros físicos e químicos analisados

Amostras 1 <sup>a</sup>									
	IAC	imut	IM	DQO	NTK	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ST	SF	SV
IAC	1	0,88	-0,75	-0,22	-0,81	-0,14	-0,36	0,57	-0,71
Imut	0,88	1	-0,78	0,08	-0,43	0,34	0,04	0,44	-0,29
IM	-0,75	-0,78	1	-0,47	0,39	-0,25	0,44	0,09	0,29
DQO	-0,22	0,08	-0,47	1	0,59	0,72	0,02	-0,85	0,64
NTK	-0,81	-0,43	0,39	0,59	1	0,7	0,65	-0,63	0,99
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,14	0,34	-0,25	0,72	0,7	1	0,65	-0,36	0,8
ST	-0,36	0,04	0,44	0,02	0,65	0,65	1	0,16	0,69
SF	0,57	0,44	0,09	-0,85	-0,63	-0,36	0,16	1	-0,6
SV	-0,71	-0,29	0,29	0,64	0,99	0,8	0,69	-0,6	1
Amostra 2 <sup>a</sup>									
	IAC	imut	IM	DQO	NTK	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ST	SF	SV
IAC	1		-0,5	-0,6	-0,99	-0,94	-0,59	-0,37	-0,17
Imut		1							
IM	-0,5		1	0,56	0,48	0,27	-0,04	0,9	-0,52
DQO	-0,6		0,56	1	0,48	0,68	-0,29	0,78	-0,62
NTK	-0,99		0,48	0,48	1	0,9	0,69	0,29	0,28
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,94		0,27	0,68	0,9	1	0,47	0,26	0,16
ST	-0,59		-0,04	-0,29	0,69	0,47	1	-0,41	0,86
SF	-0,37		0,9	0,78	0,29	0,26	-0,41	1	-0,81
SV	-0,17		-0,52	-0,62	0,28	0,16	0,86	-0,81	1
Amostra 3 <sup>a</sup>									
	IAC	Imut	IM	DQO	NTK	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	ST	SF	SV
IAC	1		0,56	-0,39	-0,87	-0,85	0,87	0,08	0,91
Imut		1							
IM	0,56		1	-0,58	-0,13	-0,23	0,59	-0,53	0,79
DQO	-0,39		-0,58	1	-0,07	-0,15	-0,01	0,86	-0,31
NTK	-0,87		-0,13	-0,07	1	0,98	-0,82	-0,55	-0,7
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,85		-0,23	-0,15	0,98	1	-0,91	-0,58	-0,77
ST	0,87		0,59	-0,01	-0,82	-0,91	1	0,32	0,95
SF	0,08		-0,53	0,86	-0,55	-0,58	0,32	1	0
SV	0,91		0,79	-0,31	-0,7	-0,77	0,95	0,003	1

\*Valores destacados em vermelho possuem p-valor menor que 0,05.

As matrizes com os valores de correlação entre as variáveis desse estudo e os índices de citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade para as amostras da ETE LA estão apresentados na Tabela 13.

**Tabela 13** – Matrizes de correlação para IAC, Imut e IM da ETE LA com outras variáveis.

Amostra 1B									
	<i>IAC</i>	<i>imut</i>	<i>IM</i>	<i>DQO</i>	<i>NTK</i>	<i>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></i>	<i>ST</i>	<i>SF</i>	<i>SV</i>
IAC	1	0,62	0,16	0,12	0,29	0,27	-0,61	-0,59	-0,60
Imut	0,62	1	0,46	0,21	0,30	-0,22	0,10	-0,02	0,13
IM	0,16	0,46	1	-0,07	-0,33	-0,87	0,15	0,12	0,16
DQO	0,12	0,21	-0,07	1	0,23	-0,13	0,09	-0,20	0,18
NTK	0,29	0,30	-0,33	0,23	1	0,41	0,34	0,39	0,32
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,27	-0,22	-0,87	-0,13	0,41	1	-0,43	-0,31	-0,46
ST	-0,61	0,10	0,15	0,09	0,34	-0,43	1	0,94	0,99
SF	-0,59	-0,02	0,12	-0,20	0,39	-0,31	0,94	1	0,90
SV	-0,60	0,13	0,16	0,18	0,32	-0,46	0,99	0,90	1

Amostra 2B									
	<i>IAC</i>	<i>imut</i>	<i>IM</i>	<i>DQO</i>	<i>NTK</i>	<i>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></i>	<i>ST</i>	<i>SF</i>	<i>SV</i>
IAC	1	0,34	-0,85	0,51	0,24	-0,72	0,27	0,33	0,23
Imut	0,34	1	-0,36	0,31	-0,29	-0,72	-0,02	-0,07	0,00
IM	-0,85	-0,36	1	-0,37	0,14	0,53	0,07	-0,09	0,14
DQO	0,51	0,31	-0,37	1	0,68	-0,13	0,85	0,90	0,78
NTK	0,24	-0,29	0,14	0,68	1	0,14	0,91	0,91	0,87
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,72	-0,72	0,53	-0,13	0,14	1	0,06	0,14	0,02
ST	0,27	-0,02	0,07	0,85	0,91	0,06	1	0,94	0,99
SF	0,33	-0,07	-0,09	0,90	0,91	0,14	0,94	1	0,87
SV	0,23	0,00	0,14	0,78	0,87	0,02	0,99	0,87	1

Amostra 3B									
	<i>IAC</i>	<i>imut</i>	<i>IM</i>	<i>DQO</i>	<i>NTK</i>	<i>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup></i>	<i>ST</i>	<i>SF</i>	<i>SV</i>
IAC	1		-0,15	-0,32	0,38	0,43	0,88	0,79	0,76
Imut		1							
IM	-0,15		1	-0,10	0,67	0,60	0,31	-0,07	0,48
DQO	-0,32		-0,10	1	-0,04	-0,17	-0,39	-0,71	-0,11
NTK	0,38		0,67	-0,04	1	0,98	0,72	0,43	0,75
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,43		0,60	-0,17	0,98	1	0,74	0,54	0,71
ST	0,88		0,31	-0,39	0,72	0,74	1	0,79	0,93
SF	0,79		-0,07	-0,71	0,43	0,54	0,79	1	0,49
SV	0,76		0,48	-0,11	0,75	0,71	0,93	0,49	1

\*Valores destacados em vermelho possuem p-valor menor que 0,05.

Para a amostra 1B referente ao efluente do desarenador, as correlações significativas foram entre IM e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ( $r=-0,87$  e  $p<0,05$ ) indicando que quanto maior a concentração de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> menor se apresentou o índice de divisão celular (IM). O índice mitótico indica que mais células estão se dividindo, assim quanto maior o IM melhor. Para a mesma amostra outras correlações consideradas de moderadas a fortes foram estabelecidas entre IAC e Imut sendo diretamente relacionadas, ou seja, quanto maior IAC maior será Imut. SF, ST e SV se apresentaram inversamente

relacionadas para essa amostra, quanto maior a concentração desses parâmetros, maior se apresentou IAC.

Para a amostra 2B referente ao tanque de aeração houve correlação significativa entre os parâmetros IM e IAC ( $r=-0,85$  e  $p<0,05$ ) indicando que quanto maior se apresentou o índice de divisão celular menor foram as aberrações. Houveram correlações significativas dessa amostra com outros parâmetros físico-químicos conforme apresentado na Tabela 12.

Para a amostra 3B referente ao efluente do decantador secundário, sendo saída da ETE LA, a correlação significativa foi entre sólidos totais e IAC. Assim como nas outras amostras outros parâmetros apresentaram correlações significativas (Tabela 9).

Em um estudo semelhante com águas residuais de fábrica de papel e celulose realizado com sementes de alface (NEVES, *et al.*, 2020) foi encontrado uma correlação negativa significativa entre DQO e o desenvolvimento ou necrose das sementes. De acordo com essa correlação à medida que a variável DQO diminui IM aumenta, sendo então menor DQO maior IM, o que se esperava nesse estudo. No entanto, coloca-se mais uma vez, para esse estudo, que outros compostos não citados podem estar ligados aos índices de toxicidade.

De forma geral, nesta pesquisa, pode-se observar que o índice mitótico é menor nas amostras de entrada das ETEs. Em um estudo semelhante de Khan, Anas e Malik (2019) tiveram essa mesma observação que o IM se apresentou menor quando houve nas amostras concentrações maiores de poluentes. Quando o índice mitótico aumenta ou diminui pode estar indicando algum tipo de contaminação nas amostras estudadas, assim, esse parâmetro pode assumir uma posição relevante para a monitoração de ambientes contaminados (GOMES, *et al.*, 2015; FERNANDES; MAZZEO; MARIN-MORALES, 2007).

Os índices mitóticos que se apresentam diferentes do IM obtido para o controle negativo indicam que o processo de divisão celular nas raízes está sendo afetado por algum contaminante presente nas amostras. O crescimento e desenvolvimento aparente da raiz pode ser afetado da mesma maneira, pois os compostos com potencial tóxico, comumente encontrados em águas residuais, prejudicam diretamente o processo de síntese do DNA e também de proteínas (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; KAM; ANAS; MALIK, 2019).

Castro e Sousa *et al.* (2017), Gomes *et al.* (2015), Bianchi, Mantovani e Marin-Morales (2015), Khan, Anas e Malik (2019) corroboram com a hipótese de que outras substâncias poluentes presentes no ambiente em que as raízes se desenvolvem podem afetar o crescimento e divisão celular e que as aberrações e alterações encontradas indicam o potencial mutagênico que exercem sob o organismo teste.

Além dos componentes que podem estar associados às alterações citadas nesse estudo, a complexidade de produtos químicos industriais e a variedade destes que não são controlados por análises químicas e chegam ao local de estudo podem afetar diretamente nos parâmetros de toxicidade. Além disso, um outro aspecto interessante sobre resíduos que afetam a toxicidade é a presença de antibióticos, cafeína e outros produtos farmacêuticos nos sistemas coletores de esgoto podendo induzir efeitos citotóxicos genotóxicos e mutagênicos mais fortes (RADIĆ, *et al.*, 2010; PEIXER, *et al.* 2017; CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; MORO, *et al.*, 2017).

Em um estudo de Caritá, Mazzeo e Marin-morales (2019) mesmo quando os padrões são atendidos resquícios de substâncias que permanecem no efluente e ainda outros poluentes podem continuar a induzir alterações nas raízes.

Em um estudo com efluente de indústria moveleira o tratamento anaeróbio seguido por um tratamento aeróbio se mostrou bastante eficaz quanto a redução da toxicidade (BOLONHESI; LOPES, 2018).

Bolonhesi e Lopes (2018) trazem em um estudo semelhante onde a inibição do crescimento da raiz é considerado um efeito letal, que é o caso da espuma onde não houve o crescimento da raiz, considerando um efeito totalmente tóxico. Nas amostras tratadas o crescimento da raiz se assemelha ao controle negativo. Pode-se observar o mesmo processo com relação as aberrações encontradas nas células que se fizeram presentes em maior número nas amostras que correspondem ao efluente sem tratamento, bem como o comprimento da raiz.

Com relação ao crescimento da raiz da espuma diluída da ETE ANA e das amostras de entrada das ETEs que apresentaram concentrações maiores observada nos parâmetros físico químicos desse estudo, ainda apresentaram crescimento da raiz. Isso pode ser justificado pelos efeitos estimulantes temporários de nitrato, nitrito, amônio e fosfato ou outras substâncias que estimularam esse desenvolvimento. A não alteração no IM das amostras mostra que um efeito citotóxico não está obrigatoriamente ligado ao efeito genotóxico, como observado na amostra da espuma diluída (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008; OLIVEIRA; VOLTOLINI; BARBÉRIO,

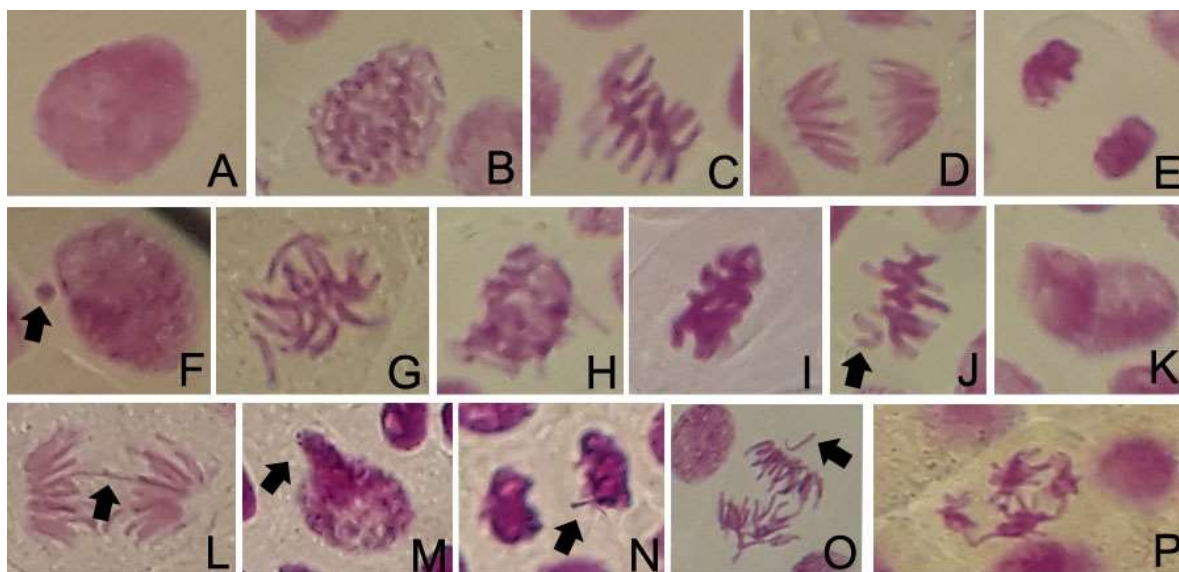
2011; MORO, *et al.*, 2017). Gomes, *et al.* (2015) em seu estudo, detectaram mudança no IM de uma amostra, mas não observaram alterações genotóxicas nas células meristemáticas.

Singh, *et al.* (2013) em um estudo com *A. cepa* com contaminantes de estaleiro apresenta que as alterações genotóxicas não necessariamente são atribuídas a um único composto, mas que pode ser em decorrência do efeito cumulativo entre os contaminantes presentes na água, como metais pesados, chumbo em tintas, entre outros e que os efeitos ao DNA podem persistir.

### 5.2.3 Anomalias celulares encontradas

As anomalias encontradas nas células meristemáticas de *A. cepa* estão exemplificadas na Figura 22. Na primeira linha de imagens (A - E) estão apresentadas as fases com desenvolvimento esperado para as células avaliadas e nas demais as células com aberrações (F – P). As análises microscópicas mostraram células com aberrações do tipo C- metáfase, metáfase poliploide, metáfase aderida, células binucleadas, anáfase com ponte, metáfase e anáfase com perda ou quebra cromossômica, brotamento nuclear, células com presença de micronúcleo, células multipolares, assim como no estudo de Gomes, *et al.* (2015).

**Figura 22** – Fotos de algumas células avaliadas.



A -Interfase; B- Prófase; C- Metáfase; D-Anáfase; E- Telófase; F - Prófase com micronúcleo; G – C-metáfase; H – Metáfase poliploide; I – Metáfase aderida; J – Metáfase com perda/ quebra cromossômica; K – célula binucleada; L – Anáfase com ponte cromossômica; M – Interfase com broto nuclear; N- Telófase com cromossomo retardatário; O – Anáfase com perda/quebra cromossômica; P- célula multipolar.

Fonte: a autora.

Foram observadas mais aberrações celulares nos cromossomos em metáfase, em todas as amostras, com um número maior nas raízes correspondentes às amostras de entrada das ETEs e da espuma. Ficaram evidentes muitas C-metáfases, metáfases poliploides e metáfases com aderência. Isso ocorre devido à desordem dos microtúbulos quando ocorre uma alteração por substâncias químicas no meio em que se se desenvolveram e a falta de fragmoplasto (sistema de fibrilas em forma de fuso) que podem prejudicar a formação de novas células, podendo dar origem a micronúcleos. Também pode ser induzida por aneuploidia, que altera a quantidade normal dos cromossomos. Além disso, a viscosidade pode ser apontada como um alerta para os efeitos tóxicos nas células do meristema das raízes. (MAZZEO; MARIN-MORALES, 2015; LIMAN *et al.*, 2010; RADIĆ, *et al.* 2010; KAM; ANAS; MALIK, 2019).

As aberrações cromossômicas desse estudo podem ser relacionadas a quebra do DNA, que durante o ciclo celular não consegue ser reparada ou é reparada, mas de maneira inadequada, resultando nas aberrações descritas acima. Assim, as aberrações, principalmente a indução de micronúcleos, podem ser de responsabilidade dos efeitos de ações clastogênicas (quebra de cromossomos) e aneugênicas (induzem aneuploidia ou separação dos cromossomos de forma

anormal) da combinação de produtos químicos e/ou outros contaminantes presentes nas amostras. (KAM; ANAS; MALIK, 2019)

Aberrações multipolares foram observadas no controle positivo, utilizando o herbicida trifluralina. De acordo com Storchova e Pellman (2004) as células poliploides são formadas quando estão em situações de estresse e, assim, o mecanismo se modifica para garantir a replicação, porém, essa situação pode originar tumores.

Micronúcleos foram observados em células da raiz onde se desenvolveu em amostras de entrada e com concentrações maiores de carga orgânica, como por exemplo nas amostras de entrada nas ETEs.

Distúrbios no ciclo celular podem estar ligados à presença de efluentes industriais, como já citado nesse estudo, assim como resíduos de fertilizantes que podem induzir efeitos genotóxicos nas células das raízes (CARITÁ; MARIN-MORALES, 2008). A ETE ANA pode receber esse tipo de resíduo em seu sistema já que está localizada em uma cidade onde a atividade agrícola é bastante exercida.

Para algumas alterações verificadas supõe-se que o bulbo de cebola do uso desse estudo, por não ter sido cultivada pelo próprio pesquisador, apresente alguma modificação conforme foi produzida ou até mesmo a variação de produtor, já que conforme contato com o comerciante também não é de próprio cultivo.

O monitoramento ambiental com testes de *A. cepa* se mostrou fácil, simples e de baixo custo, que pode ser desejável para incorporação a parâmetros de toxicidade nas ETEs futuramente, combinados com as análises físico-químicas.

Sugere-se que este estudo seja reproduzido utilizando sementes de *A. cepa*, pois a interferência ambiental é ausente.

Como citado constantemente, há outros poluentes, contaminantes que podem interferir na toxicidade de um efluente. Porém o efluente final de ambas as ETEs, como um todo, não se apresentaram prejudiciais ao meio de acordo com as características gerais apresentadas.

## 6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa pode-se concluir que a A ETE ANA e a ETE LA se mostraram eficientes quanto à remoção de DQO, sendo a primeira com eficiência de 36 a 87% e a segunda com eficiência acima de 85%. Quanto à remoção de nitrogênio amoniacal, observou-se que a ETE ANA apresentou eficiência de remoção de 29 a 46%, já a ETE LA de 33 a 89%. Deve-se destacar que ETE com tratamento anaeróbio não foram projetadas para remoção de nitrogênio, mas de DQO. Sendo assim, ambas as ETEs cumprem sua função.

O crescimento da raiz nas amostras da ETE ANA e ETE LA foi mais desenvolvido nas amostras tratadas, ou seja, o tratamento em ambas as ETEs possibilitaram a redução da ecotoxicidade dos esgotos.

O crescimento da raiz nas amostras da ETE ANA apresentou-se mais desenvolvido nas amostras tratadas.

A inibição total do crescimento da raiz foi observada apenas na espuma sem diluição, sendo considerada tóxica para *A. cepa*. Já a espuma diluída não se apresentou tóxica com relação ao crescimento da raiz.

O crescimento da raiz nas amostras da ETE LA foi mais desenvolvido e de melhor aparência para as amostras tratadas. Para a amostra do afluente (1B) da ETE LA houve diferença maior em um dos ensaios (4LA), que, conforme apontou análise, foi o ensaio em que a amostra apresentou menor DQO.

As amostras dos efluentes finais do tratamento de ambas as ETEs não são consideradas citotóxicas, genotóxicas ou mutagênicas.

Constatou-se eficácia com relação à diminuição dos índices de toxicidade de forma geral, tanto na ETE ANA quanto na ETE LA. A forma de tratamento difere, mas ambas se apresentaram eficaz.

Os ensaios realizados com  $\text{NH}_4\text{Cl}$  e  $\text{NaNO}_3$  mostraram que o crescimento da raiz não foi afetado, mas ambas as substâncias mostraram ser genotóxicas e  $\text{NaNO}_3$  também mostrou indicativo de mutagenicidade.

O teste de toxicidade desse estudo, com *Allium cepa*, se mostrou além de importante, eficaz, de baixo custo e de fácil acesso para analisar e classificar quanto a toxicidade, as amostras como um todo.



## REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. O ciclo de divisão celular. In: SOBRENOME, Prenome. **Fundamentos da biologia celular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 603-643.
- ALVIM, L. B.; KUMMROW, F.; BEIJO, L. A.; LIMA, C. A. A.; BARBOSA, S. Avaliação da citogenotoxicidade de efluentes têxteis utilizando *Allium cepa* L. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 255-265, 31 ago. 2011.
- APHA. American Public Health Association, AWWA, WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20 th. Ed., Washington, 1998.
- BIANCHI, J.; MANTOVANI, M. S.; MARIN-MORALES, M. A. Analysis of the genotoxic potential of low concentrations of Malathion on the *Allium cepa* cells and rat hepatoma tissue culture. **Journal of Environmental Sciences**, [S.L.], v. 36, p. 102-111, out. 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1001074215002855?via%3Dihub>. Acesso em: 28 jun. 2021.
- BOLONHESI, I. B. T. M.; LOPES, D. D. Analysis of toxicity from the effluent generated in a furniture industry spray booth using the species *Lactuca sativa* and *Allium cepa*. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1, 31 out. 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ambiagua/a/wcxrSD3MNKB9YncRJPLdfMG/?lang=en>. Acesso em: 29 jun. 2021.
- BONOMO, M. M. **Efeitos citogenéticos, bioquímicos, morfológicos e anatômicos da aplicação de lodo de esgoto higienizado em *Carica papaya* L.** 2014. 86 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2014. Disponível em: [http://portais4.ufes.br/posgrad/teses/tese\\_7844\\_Disserta%E7%E3o%20Marina%20Marques%20Bonomo.pdf](http://portais4.ufes.br/posgrad/teses/tese_7844_Disserta%E7%E3o%20Marina%20Marques%20Bonomo.pdf). Acesso em: 01 jul. 2019.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 430 de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: 06 jun. 2019.
- CARITÁ, R.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Comparison of the toxicogenetic potential of sewage sludges from different treatment processes focusing agricultural use. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.]

v.1, p. 1-9, May 2019. Disponível em: <https://link-springer-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11356-019-05453-y>. Acesso em: 24 jun 2019.

CARITÁ, R.; MARIN-MORALES, M.A. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. **Chemosphere**, [S.L.], v. 72, n. 5, p. 722-725, jun. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653508004372?via%3Dihub>. Acesso em: 03 jul. 2021.

CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, S. M. Mitose. In: SOBRENOME, Prenome. **A célula**. 3. ed. Barueri: Manole, 2013, p. 501-518.

CASTRO E SOUSA, J. M.; PERON, A. P.; SILVA E SOUZA, L.; HOLANDA, M. M.; LIMA, A. M. V.; OLIVEIRA, V. A.; SILVA, F. C. C.; LIMA, L. H. G. M.; MATOS, L. A.; DANTAS, S. M. M. M.; AGUIAR, R. P. S.; ISLAM, M. T.; MELO-CAVALCANTE, A. A. C.; BONECKER, C.C; JÚLIO JUNIOR, H, F. Cytotoxicity and genotoxicity of Guaribas river water (Piauí, Brazil), influenced by anthropogenic action. **Environmental Monitoring and Assessment**, [s.l.] v. 189, p. 301, May 2017. Disponível em: <https://link-springer-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s10661-017-6015-2#citeas>. Acesso em: 19 nov. 2019.

CHERNICHARO, C. A. L. **Princípios do tratamento biológico de águas residuárias**. v. 5. 2 ed. Belo Horizonte: UFMG/DESA, 2016. 379 p.

CHERNICHARO, C.A.L.; RIBEIRO, T.B.; GARCIA, G.B.; LERMONTOV, A.; PLATZER, C.J.; POSSETTI, G.R.C.; LEITES, M.A.L.; ROSSETO, R. Panorama do tratamento de esgoto sanitário nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil: tecnologias mais empregadas. **Revista DAE**, [S.L.], v. 66, n. 213, p. 5-19, 2018. Disponível em: <http://revistadae.com.br/site/artigo/1748-Panorama-do-tratamento-de-esgoto-sanitario-nas-regioes-Sul,-Sudeste-e-Centro-Oeste-do-Brasil-tecnologias-mais-empregadas->. Acesso em: 09 jun 2021.

CORREA, C. Z.; PRATES, K. V. M. C.; AZEVEDO, C. S.; LOPES, D. D.; RODRIGUES E. A.; PETERLINI, G.; BARANA, A. C. Comportamento da remoção de matéria orgânica (DQO) e nitrogênio amoniacal em um reator de leito estruturado operado sob aeração intermitente. **Scientia Plena**, [s.l.] v. 12, p 1-10, Feb. 2016. Disponível em: <https://scientiaplena.org.br/sp/article/view/2725/1396>. Acesso em: 08 jun. 2019.

DE ROBERTIS, E. M. F.; HIB, J. A mitose. Controle do ciclo celular. In: SOBRENOME, Prenome. **Bases da biologia celular e molecular**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. p. 283-297.

FERNANDES, T. C.C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry And Physiology**, [S.L.], v. 88, n. 3, p. 252-259, jul. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0048357506001945?via%3Dihub>. Acesso em: 03 jul. 2021.

FERNANDES, T. C.C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Origin of nuclear and chromosomal alterations derived from the action of an aneugenic agent—Trifluralin herbicide. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 72, n. 6, p. 1680-1686, set. 2009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0147651309000529?via%3Dihub#bib8>. Acesso em: 09 jul. 2021.

FISKESJÖ, Geirid. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, [S.L.], v. 102, n. 1, p. 99-112, 14 fev. 1985. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>. Acesso em: 10 jul. 2021.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test — an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [S.L.], v. 197, n. 2, p. 243-260, fev. 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0027510788900966>. Acesso em: 20 jul. 2021.

GOLDONI, A.; GOLFETO, C.; TEIXEIRA, J.; BLUMM, G.; WILHELM, C.; TELÖKEN, F.; BIANCHI, E.; SCHIMITT, J.; GEHLEN, G.; RODRIGUES, M.; SILVA L. Cytotoxic and genotoxic evaluation and chemical characterization of sewage treated using activated sludge and a floating emergent-macrophyte filter in a municipal wastewater treatment plant: a case study in southern brazil. **Environmental Earth Sciences**, [S.L.], v. 72, n. 5, p. 1503-1509, 19 jan. 2014. Disponível em: <http://search-ebscohost-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/login.aspx?direct=true&db=iih&AN=97501284&lang=pt-br&site=ehost-live>. Acesso em: 9 jun. 2021. Acesso em: 03 jun. 2021.

GOMES, J. V.; TEIXEIRA, J. T. S.; LIMA, V. M.; BORBA, H. R. Induction of cytotoxic and genotoxic effects of Guandu River waters in the *Allium cepa* system. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, [s. l.] v 10, n 1, 1 jan. 2015. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ambiagua/a/n7Jrn9xbDKYfJQSmxZmzDf/?lang=en>. Acesso em: 28 jun. 2021.

JÜRGENSEN, D.; LOBATO, M. B.; AISSE, M.M.; SOBRINHO, P. A. Avaliação do sistema reator RALF e flotação por ar dissolvido, no tratamento de esgoto sanitário. **Revista técnica da Sanepar**, [S.L.], v 17, p. 49-58, 2002.

KHAN, A. A.; GAUR, R. Z.; TYAGI, V.K.; KHURSHEED, A.; LEW, B.; MEHROTRA, I.; KAZMI, A.A. Sustainable options of post treatment of UASB effluent treating sewage: a review. **Resources, Conservation and Recycling**, [S.L.], v. 55, n. 12, p. 1232-1251, out. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921344911001005>. Acesso em: 28 jun. 2021.

KAM, S.; ANAS, M.; MALIK, A. Mutagenicity and genotoxicity evaluation of textile industry wastewater using bacterial and plant bioassays. **Toxicology Reports**, Índia, v 6, p. 193–201, 23 jan. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi-nlm-nih.ez82.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC6396094/>. Acesso em 29 jun. 2021.

KRÜGER, R. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium cepa***. 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade Ambiental) – Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009. Disponível em: <https://aplicweb.feevale.br/site/files/documentos/pdf/29080.pdf>. Acesso em: 10 mai 2019.

LAM, L.; KURISU, K.; HANAKI, K. Comparative environmental impacts of source-separation systems for domestic wastewater management in rural China. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.] v. 104, p. 185-198, Oct. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0959652615005016>. Acesso em: 09 jun 2019.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews In Mutation Research**, [S.L.], v. 682, n. 1, p. 71-81, jul. 2009. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404?casa\\_token=Vx4Fb4pgEIEAAAAA:MvfYWENxP6nGbp\\_HnMvrMdd9IQWejpqSH8bJPoFGMY6udLiXkKVUTCwcT3slLwLSZV2rOg\\_oBkWf](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383574209000404?casa_token=Vx4Fb4pgEIEAAAAA:MvfYWENxP6nGbp_HnMvrMdd9IQWejpqSH8bJPoFGMY6udLiXkKVUTCwcT3slLwLSZV2rOg_oBkWf). Acesso em: 05 abr. 2021.

LIMAN, R.; AKYIL, D.; EREN, Y.; MUHSIN, K. Testing of the mutagenicity and genotoxicity of metolcarb by using both Ames/Salmonella and *Allium* test. **Chemosphere**, [S.L.], v. 80, n. 9, p. 1056-1061, ago. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0045653510005680?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jun. 2021.

LUTTERBECK, C. A.; ZERVES, F.V.; RADTKE, J. F.; KÖHLER, A.; KIST, L. T.; MACHADO, E. L. Integrated system with constructed wetlands for the treatment of domestic wastewaters generated at a rural property – Evaluation of general parameters ecotoxicity and cytogenetics. **Ecological Engineering**, [s.l.] v. 115, p. 1-8, May 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0925857418300041#b0145>. Acesso em: 09 jun. 2019.

MADSEN, M.; HOLM-NIELSEN, J. B.; ESBENSEN, K. H. Monitoring of anaerobic digestion processes: a review perspective. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [S.L.], v. 15, n. 6, p. 3141-3155, ago. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1364032111001705>. Acesso em: 26 set. 2021.

MARTINS, M. N. C.; SOUZA, V. V.; SOUZA, T. S. Cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of sewage sludge on *Allium cepa*. **Chemosphere**, [s.l.] v. 148, p. 481-486, Apr. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0045653516300716>. Acesso em: 30 jun. 2019.

MAURO, M. O; PESARINI, J. R.; MARIN-MORALES, M. A.; MONREAL, M. T. F. D.; MONREAL, A. C. D.; MANTOVANI, M. S.; OLIVEIRA, R. J. *et al.* Evaluation of the antimutagenic activity and mode of action of the fructooligosaccharide inulin in the meristematic cells of *Allium cepa* culture. **Genetics And Molecular Research**, Ribeirao Preto: v. 13, p. 4808-4819, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/117560>. Acesso em: 30 jun. 2019.

MAZZEO, D. E. C.; FERNANDES, T. C. C.; LEVY, C. E.; FONTANETTI, C. S.; MARIN-MORALES, M. A. Monitoring the natural attenuation of a sewage sludge toxicity using the *Allium cepa* test. **Ecological Indicators**, [s.l.] v. 56, p. 60-69, Sep. 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1470160X15001508>. Acesso em: 24 jun 2019.

MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity evaluation of environmental pollutants using analysis of nucleolar alterations. **Environmental Science and Pollution Research**, [s.l.] v. 22, p. 9796-9806, Feb. 2015. Disponível em: <https://link-springer-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11356-015-4134-2#citeas>. Acesso em: 19 nov. 2019.

METCALF & EDDY. **Wastewater engineering. Treatment, disposal and reuse**. 3 ed. New York: McGraw-Hill, 1991.

MIELLI, A. C.; MATTA, M. E. M.; NERSESYAN, A.; SALDIVA, P. H. N.; UMBUZEIRO, G. A. Evaluation of the genotoxicity of treated urban sludge in the *Tradescantia* micronucleus assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, [S.L.], v. 672, n. 1, p. 51-54, jan. 2009. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1383571808002702#bib10>. Acesso em: 10 jun. 2021.

MORALES, G. C. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas**. México: IMTA, 2004. 189 p.

MORO, T. R.; HENRIQUE, F. R.; MALUCELLI, L. C.; OLIVEIRA, C. M. R.; CARVALHO FILHO, M. A. S.; VASCONCELOS, E. C. Adsorption of pharmaceuticals in water through lignocellulosic fibers synergism. **Chemosphere**, [S.L.], v. 171, p. 57-65, mar. 2017. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S004565351631760X?via%3Dihub>. Acesso em: 09 jul. 2021.

NEVES, L. C.; SOUZA, J. B.; VIDAL, C. M. S.; HERBERT, L. T.; SOUZA, K. V.; MARTINS, K. G.; YOUNG, B. J. Phytotoxicity indexes and removal of color, COD, phenols and ISA from pulp and paper mill wastewater post-treated by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and photo-Fenton. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [S.L.], v. 202, p. 110939, out. 2020. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0147651320307788?via%3Dihub>. Acesso em: 26 jun. 2021.

OGGA, M. S., CAMARGO, M. A., BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

OLIVEIRA, J. G. B. **Pós-tratamento de efluente de UASB em reator de leito empacotado com aeração intermitente em escala piloto**. 2020. 77 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020. Disponível em: <https://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/3361/1/Jo%c3%a3o%20Guilherme%20Baggio%20de%20Oliveira.pdf>. Acesso em 09 jul. 2021.

OLIVEIRA, L. M. de; VOLTOLINI, J. C.; BARBÉRIO, A. Potencial mutagênico dos poluentes na água do rio Paraíba do Sul em Tremembé, SP, Brasil, utilizando o teste Allium cepa. **Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal Of Applied Science**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 90-103, 30 abr. 2011. Disponível em: [http://www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/view/476/pdf\\_422](http://www.ambi-agua.net/seer/index.php/ambi-agua/article/view/476/pdf_422). Acesso em: 03 jul. 2021.

PALMA, P.; FIALHO, S.; ALVARENGA, P.; SANTOS, C.; BRÁS, T.; PALMA, G.; CAVACO, C.; GOMES, R.; NEVES, L. A. Membranes technology used in water treatment: Chemical, microbiological and ecotoxicological analysis. **Science of The Total Environment**, [s.l.] v. 568, p. 998-1009, Oct. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0048969716309378>. Acesso em: 08 jun. 2019.

PALMIERI, J. M.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; CAMPOS, J. M. S.; GEDRAITE, L. S.; DAVIDE, L. C. Cytotoxicity of Spent Pot Liner on Allium cepa root tip cells: A comparative analysis in meristematic cell type on toxicity bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.] v. 133, p. 442-447, Nov. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0147651316302792>. Acesso em: 19 nov. 2019.

PAPA, M.; CERETTI, E.; VIOLA, G. C. V.; FERETTI, D.; ZERBINI, I.; MAZZOLENI, G.; STEIMBERG, N.; PEDRAZZANI, R.; BERTANZA, G. The assessment of WWTP performance: Towards a jigsaw puzzle evaluation? **Chemosphere**, [s.l.] v. 145, p.291-300, Feb. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S004565351530388X#bib43>. Acesso em: 09 jun. 2019.

PATNAIK, A. R.; ACHARY, V. M. M.; PANDA, B. B. Chromium (VI)-induced hormesis and genotoxicity are mediated through oxidative stress in root cells of *Allium cepa* L. **Plant Growth Regulation**, [S.L.], v. 71, n. 2, p. 157-170, 26 abr. 2013. Disponível em: <https://link-springer-com.ez82.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s10725-013-9816-5#citeas>. Acesso em: 09 jul. 2021.

PAULA, L. G. A.; VAN HAANDEL, A. C.; SILVA, H. A.; PORTO, G. A. Estudo comparativo da determinação experimental das constantes de sedimentabilidade de lodos ativados. **Revista Dae**, [s.l.], v. 66, n. 210, p. 51-61, 2018. Disponível em: <http://revistadae.com.br/site/artigos/210>. Acesso em: 16 abr. 2021.

PEIXER, G.; HENRIQUE, F. R.; CAON, T.; SILVA, M. A. S.; OLIVEIRA, C. M. R.; VASCONCELOS, E. C. Genotoxicidade e Citotoxicidade da água do Rio Passaúna: bioensaio com *allium cepa* e relação com níveis de cafeína. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, [S.L.], n. 46, p. 88-101, set. 2017. Disponível em: [http://rbciamb.com.br/index.php/Publicacoes\\_RBCIAMB/article/download/86/56](http://rbciamb.com.br/index.php/Publicacoes_RBCIAMB/article/download/86/56). Acesso em: 25 jun. 2021.

PINTILLIE, L.; TORRES, C. M.; TEODOSIU, C.; CASTELLS, F. Urban wastewater reclamation for industrial reuse: An LCA case study. **Journal of Cleaner Production**, [s.l.] v. 139, p. 1-14, Dec. 2016. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0959652616311143>. Acesso em: 09 jun 2019.

PINTO, M. C. K.; CRUZ, R. L.; FRIGO, E. P.; FRIGO, M. S.; HERMES, E. Contaminação das águas subterrâneas por nitrogênio devido à irrigação com efluente do tratamento de esgoto. **Irriga**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 270, 11 jul. 2013. Disponível em: <https://revistas.fca.unesp.br/index.php/irriga/article/view/430>. Acesso em: 10 jun. 2021.

POLAK, R. **Reator de leite empacotado em escala piloto para remoção de matéria orgânica e nitrogenada de esgoto sanitário**. 2018. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e ambiental) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2018. Disponível em: <http://tede2.uepg.br/jspui/bitstream/prefix/2708/1/Rafael%20Polak.pdf>. Acesso em 10 mai. 2019.

PRASSE, C.; STALTER, D.; SCHULTE-OEHLMANN, U.; OEHLMANN, J.; TERNES, T. A. Spoilt for choice: A critical review on the chemical and biological assessment of current wastewater treatment technologies. **Water Research**, [s.l.] v. 87, p. 237-270, Dec. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135415302360>. Acesso em: 06 jun 2019.

RADIĆ, S.; STIPANIČEV, D.; VUJČIĆ, V.; RAJČIĆ, M. M.; LIRAC, S.; PEVALEK-KOZLINA, B. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the Allium cepa test. **Science Of The Total Environment**, [S.L.], v. 408, n. 5, p. 1228-1233, fev. 2010. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S004896970901170X?via%3Dihub>. Acesso em: 27 jun. 2021.

RANK, J.; NIELSEN, M.H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the Allium cepa anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, [S.L.], v. 418, n. 2-3, p. 113-119, out. 1998. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1383571898001181>. Acesso em: 10 jun. 2021.

ROSS, B. Z. L.; CARNEIRO, C.; MARQUES, C. J.; COSTA, F. J. O. G.; FROEHNER, S.; AISSE, M. M. Impacto da incorporação de espuma em lodo de esgoto com fins agrícolas. **Revista Dae**, [S.L.], v. 64, n. 203, p. 6-18, 2016. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/41014/R%20-%20T%20-%20BARBARA%20ZANICOTTI%20LEITE%20ROSS.pdf?sequence=2&isAllowed=y>. Acesso em 08 abr. 2021.

SANT'ANNA JR., G.L. **Tratamento biológico de efluentes**: fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: Interciência, 2010. 418 p.

SINGH, M.; DAS, A.; SINGH, D.; MAITI, P.; SHABBIR, M.; DAS, A. High genotoxicity of shipyard contaminants on Allium cepa and calf thymus DNA. **Environmental Chemistry Letters**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 321-327, 27 nov. 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10311-013-0446-y>. Acesso em: 19 abr. 2021.

SOARES, J. F.; ILHA, R.; VASCONCELLOS, N. J. S.; SANTIAGO, M. R. Caracterização do Floco biológico e da microfauna em sistema de lodos ativados. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p.1-10, 2014. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/277917866\\_CHARACTERIZACAO\\_DO\\_FLOCO\\_BIOLOGICO\\_E\\_DA\\_MICROFAUNA\\_EM\\_SISTEMA\\_DE\\_LODOS\\_ATIVADOS](https://www.researchgate.net/publication/277917866_CHARACTERIZACAO_DO_FLOCO_BIOLOGICO_E_DA_MICROFAUNA_EM_SISTEMA_DE_LODOS_ATIVADOS). Acesso em 03 abr 2021.

STEBBING, A.R.D. Hormesis — The stimulation of growth by low levels of inhibitors. **Science of the Total Environment**, [S.L.], v. 22, n. 3, p. 213-234, fev.



1982. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/0048969782900663?via%3Dihub>. Acesso em: 09 jul. 2021.

STORCHOVA, Z.; PELLMAN, D. From polyploidy to aneuploidy, genome instability and cancer. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 45-54, jan. 2004. Disponível em: <https://go-gale.ez82.periodicos.capes.gov.br/ps/i.do?p=AONE&u=capes&id=GALE|A188915663&v=2.1&it=r>. Acesso em: 03 jul. 2021.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1996. 243 p.

ZHANG, Y.; SUN, Q.; ZHOU, J.; MASUNAGA, S.; MA, F. Reduction in toxicity of wastewater from three wastewater treatment plants to alga (*Scenedesmus obliquus*) in northeast China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s.l.] v. 119, p. 132-139, Sep. 2015. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0147651315001918#bib42>. Acesso em: 29 jun 2019.

ZOPPAS, F. M.; BERNARDES, A. M.; MENEGUZZI, A. Parâmetros operacionais na remoção biológica de nitrogênio de águas por nitrificação e desnitrificação simultânea. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, [S.L.], v. 21, n. 1, p. 29-42, mar. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/esa/a/hWQTNJv7sPvTfXFCdkMR/SvQ/?lang=pt>. Acesso em: 10 jun. 2021.