

REVISTA AIDIS

de Ingeniería y Ciencias Ambientales:
Investigación, desarrollo y práctica.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM EFLUENTES DE FOSSA SÉPTICA PARA *Daphnia magna* E *Daphnia similis*

*Geisa Vieira Vasconcelos Magalhães¹
Edlene Sales de Paula¹
Ronaldo Stefanutti¹

EVALUATION OF TOXICITY OF SEPTIC TANK EFFLUENT
TO *Daphnia magna* AND *Daphnia similis*

Recibido el 6 de febrero de 2014; Aceptado el 11 de noviembre de 2014

Abstract

Sustainability in sanitation management is not an option but a necessity. The direct discharge of untreated wastewater has a negative environmental impact and poses health problems for society. One source of pollution is the effluent from septic tanks that may pollute the aquatic biota is dumped directly into waterways without any treatment. And to assess the impact that these pollutants have on aquatic biota is used for toxicity testing. The aim of this study was to know the characteristics of the effluent from septic tanks and assess the degree of acute toxicity via microcrustaceans *Daphnia magna* and *Daphnia similis*. Were collected and characterized twelve samples of effluent from septic tanks. Later there was the toxicity of the samples with *Daphnia magna* and *Daphnia similis* microorganisms. The results indicate varying concentrations of COD, BOD, solids and nitrogen. Toxicity tests demonstrate the presence of high toxicity for all samples with a mean EC₅₀ equal to 54% to 41% *Daphnia magna* and *Daphnia similis* showing that these samples are considered toxic. Toxicity tests with aquatic organisms are an effective tool for evaluation or detection of the effects of pollutants on living organisms.

Key Words: *Daphnia magna*, *Daphnia similis*, Effluent from septic tanks

¹ Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Brasil.

*Autor correspondente: Departamento de Engenharia Hidráulica e Ambiental. Universidade Federal do Ceará. Campus do Pici, s/n Bloco 713 Bairro Pici Cidade Fortaleza- Ceará CEP 60451-970- Brasil. Email: geisavieira@hotmail.com

Resumo

A sustentabilidade na gestão de saneamento não é uma opção e sim uma necessidade. A descarga direta de águas residuais não tratadas tem um impacto ambiental negativo e coloca problemas de saúde para sociedade. Uma das fontes de poluição é o efluente de fossa séptica que pode poluir a biota aquática se lançados diretamente nos cursos d'água sem qualquer tratamento prévio. E para avaliar o impacto que estes poluentes causam sobre a biota aquática utiliza-se teste de toxicidade. O objetivo deste trabalho foi conhecer as características do efluente de fossa séptica e avaliar o grau de toxicidade aguda através dos microcrustáceos *Daphnia magna* e *Daphnia similis*. Foram coletadas e caracterizadas doze amostras de efluentes de fossa séptica. Posteriormente verificou-se a toxicidade das amostras com os microrganismos *Daphnia magna* e *Daphnia similis*. Os resultados indicam concentrações variáveis de DQO, DBO, série de sólidos e nitrogênio. Os testes de toxicidade demonstram presença de alta toxicidade para todas as amostras com média de CE₅₀ igual a 54 % para *Daphnia magna* e 41 % para *Daphnia similis* mostrando que essas amostras são consideradas tóxicas. Os testes de toxicidade com organismos aquáticos constituem uma ferramenta efetiva para avaliação ou detecção dos efeitos dos poluentes sobre os organismos vivos.

Palavras chave: *Daphnia magna*, *Daphnia similis*, Efluente de fossa séptica.

Introdução

No século XXI, o mundo está enfrentando uma crise ambiental em termos de disponibilidade e qualidade da água, causada pelo crescimento contínuo da população, industrialização, práticas de produção de alimentos e a busca de uma maior qualidade de vida. A rápida industrialização, urbanização, e crescimento populacional resultaram no aumento dos volumes de águas residuais domésticas e industriais não tratadas sendo descarregadas em rios e canais e, conseqüentemente, ocorrendo à deterioração da qualidade de águas superficiais e subterrâneas.

Nos países em desenvolvimento a população vem crescendo de maneira muito acelerada, de forma que a implantação dos serviços públicos de saneamento não tem acompanhado tal crescimento. Uma das alternativas é a utilização de fossas sépticas que tem como principal objetivo impedir a contaminação do solo, da água de subsolo usada para consumo humano, das praias, rios entre outros (Jordão e Pessoa, 2005).

As fossas sépticas são um tratamento comum para águas residuais domésticas em zonas rurais. POREM SE HOUVER vazamento de tais sistemas, pode representar um risco para a qualidade da água especialmente se eles estão localizados relativamente perto das águas superficiais (David *et al.*, 2014).

Só que muitas vezes esses efluentes são despejados sem tratamento nos rios e mares que servem de corpos receptores provocando a poluição das águas, dificultando e encarecendo, cada vez mais, a própria captação de água para o abastecimento (Faustino, 2007). A disposição final desse efluente requer métodos alternativos e uma alternativa promissora é o seu uso como fertilizante na agricultura, uma vez que é rico em matéria orgânica, macro e micronutrientes (Grotto *et al.*, 2013).

Porem a qualidade ambiental desses efluentes não é confiável quando se baseiam unicamente em análises químicas (Kapanen *et al.*, 2013). Para se averiguar a toxicidade desse efluente é utilizado ensaios de toxicidade que são testes laboratoriais realizados sob condições experimentais específicas e controlados, que estimam a toxicidade de substâncias, efluentes industriais e amostras ambientais podendo ser tanto em águas ou em sedimentos (Costa *et al.*, 2008). Baseiam-se em avaliações das concentrações de um agente químico, e na duração de exposição requerida para a produção de um determinado efeito, com objetivo de detectar e avaliar o potencial de efeito de agentes químicos para organismos aquáticos (Paiva, 2004).

Geralmente nesses estudos são utilizados testes simples, como por exemplo, testes de curto prazo para avaliação dos efeitos agudos. Conforme a necessidades do trabalho podem ser também realizados testes mais complexos e sofisticados, como por exemplo, testes de longo prazo para avaliação dos efeitos crônicos (Zagatto e Bertoletti, 2008).

Nos estudos ecotoxicológicos o principal instrumento é o teste de toxicidade que pode fornecer uma medida de todo o impacto tóxico de uma substância, composto ou efluente. Neste último caso o efeito adverso é devido a uma mistura complexa de substâncias químicas que integra diferentes fatores, tais como pH, solubilidade, antagonismo ou sinergismo, biodisponibilidade, etc, (Costa *et al.*, 2008). O nitrogênio na forma de amônia apresenta-se tóxico quando a faixa de pH está próxima a neutralidade (< 8), provocando a mortes de peixes e outros organismos aquáticos (Von Sperling, 2005).

Vários poluentes tais como concentração total de substâncias orgânicas (DQO), nutrientes (amônia e fósforo) e um número de produtos químicos inorgânicos e orgânicos específicos podem causar toxicidade e afetar o ecossistema aquático (Lopus, 2009).

Bulich (1982) foi um dos percussores que desenvolveu a técnica para tentar estabelecer as faixas de toxicidade a fim de classificar os lançamentos de efluentes por níveis de toxicidade. Depois a técnica foi modificada por Coelho (2006) que estabeleceram quatro classes que podem ser utilizadas. Na Tabela 1 são apresentadas as classes de toxicidade e suas respectivas faixas de toxicidade de acordo com o valor da CE_{50} que permite determinar a concentração efetiva das amostras que causa imobilidade a 50% dos organismos jovens em 48h e Desse modo é possível classificar o tipo de efluente variando entre muito tóxico até levemente tóxico.

Tabela 1. Classificação da toxicidade aguda segundo BULICH

Valores de CE ₅₀	Classe das Amostras
< 25%	Muito Tóxica
25% - 50%	Tóxica
51% - 75	Moderadamente Toxica
>75%	Levemente Tóxica

Fonte: adaptado de Bulich (1982).

Sousa (2010) avaliou o uso de testes de toxicidade com o organismo *Daphnia magna* no biomonitoramento de efluentes de ETEs industriais, hospitalares e de aterro sanitário, onde para o efluente do aterro sanitário apresentou toxicidade aguda com um CE₅₀ de 68% o que é classificado como moderadamente tóxico. Já em relação ao esgoto hospitalar, observou-se que o esgoto apresentou alta toxicidade e um CE₅₀ de 7,27% e o efluente sintético bruto apresentou CE₅₀ de 23,02% sendo classificado como efluente muito tóxico, demonstrando a grande importância dos testes ecotoxicológicos agudo no biomonitoramento de cargas poluidoras em corpos de água. Este trabalho teve como objetivo caracterizar o efluente de fossa séptica, avaliar a sua toxicidade através de microrganismos aquáticos como a *Daphnia similis* e *Daphnia magna* e verificar se os testes de toxicidade são uma ferramenta rápida e prática na avaliação da toxicidade de efluentes.

Metodologia

Os resíduos foram coletados quinzenalmente na ETE São Cristóvão localizada no município de Fortaleza, Estado do Ceará – Brasil. A Figura 1 mostra a coleta das amostras que foi realizada por meio de amostragem simples e foi armazenada em frascos de polietileno de 5 litros.



Figura 1. Ilustração de um caminhão limpa fossa descarregando na estação e a realização da coleta

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Saneamento (LABOSAN) da Universidade Federal do Ceará (UFC). A maioria das análises foi realizada de acordo com o Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater 21th (2005). Os testes de toxicidade foram realizados com os microcrustáceos *Daphnia similis* e *Daphnia magna* de acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) 12713:2009 que explica o método para analisar a toxicidade aguda com as Daphnias.

Antes da realização dos testes de toxicidade foram analisados nas amostras os parâmetros de concentração de oxigênio dissolvido (OD), temperatura, pH entre 7,6-8,0 e dureza que tem que está entre 175 -225 mgCaCO₃. Este monitoramento teve como objetivo avaliar a interferência de alguma variável nos resultados de toxicidade obtidos já que, segundo Zagatto e Bertoletti (2008), estes são os principais fatores abióticos que podem interferir nestes resultados.

Devido à grande quantidade de sólidos existente na amostra, foi primeiramente centrifugado a uma rotação por minuto (RPM) de 3000 durante 10 minutos. Se mesmo após a centrifugação persistissem os sólidos, o material era filtrado á vácuo em membrana com poros de 0,45 µm.

Cultivo das Daphnias

O preparo do meio de cultivo das Daphnias era realizado uma vez por semana, aerado por 24 horas para completa solubilização dos sais, saturação do oxigênio dissolvido que deve estar numa faixa entre 60 - 100% e estabilização do pH de acordo com ABNT 12713:2009. Os organismos foram cultivados em forma de lote, sendo que cada lote comportava 25 organismos em 1L de meio de cultivo, com luminosidade difusa, fotoperíodo de 16h de luz e 8h no escuro, temperatura de 18°C a 22°C, mantidos em câmara de germinação da marca Tecnal TE-401 com temperatura de ± 20°C.

Os lotes eram formados exclusivamente por fêmeas que se reproduzem por partenogênese. O meio de cultivo era mantido na câmara, antes da sua utilização, para evitar diferenças de temperaturas maiores que 2°C.

Neonatos de *Daphnia similis* com idade entre 06 e 24 horas e *Daphnia magna* com idade entre 02 e 26h, foram expostos às diversas concentrações da substância de referência o dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) para a produção da carta controle. Os organismos jovens foram obtidos a partir de fêmea com idade entre 10 e 60 dias para *Daphnia magna* e para *Daphnia similis* com idade entre 07 e 28 dias.

Teste Preliminar e Definitivo

Primeiramente, foi realizado um teste preliminar que consiste em estabelecer um intervalo de concentrações dos efluentes, na qual se determina a menor concentração que causa imobilidade a 100% dos organismos, e a concentração mais elevada na qual não se observa a

imobilidade dos mesmos. A imobilidade ou morte são resultados da exposição dos organismos à amostra sendo que cada réplica foi composta por cinco organismos, totalizando 20 organismos por concentração.

Foi realizado um ensaio com cinco diluições da amostra e um controle (água de diluição) conforme mostra a Figura 2 com os percentuais de amostras que varia de 6,2% à 100% de amostra, para estabelecer um intervalo de concentração a ser utilizado no ensaio definitivo O ensaio preliminar ocorreu nas mesmas condições do ensaio definitivo na qual foi determinada a menor concentração que causa imobilidade e a maior na qual não se observa imobilidade. Após 48h observou-se o número de indivíduos imóveis por concentração e a partir destes dados, calculou-se a porcentagem de mortalidade por concentração. O resultado do teste foi expresso em porcentagem de CE_{50} e foi calculado utilizando-se o método estatístico *Trimmed Spearman-Kärber Method* para dados não paramétricos (Hamilton *et al.*, 1977).

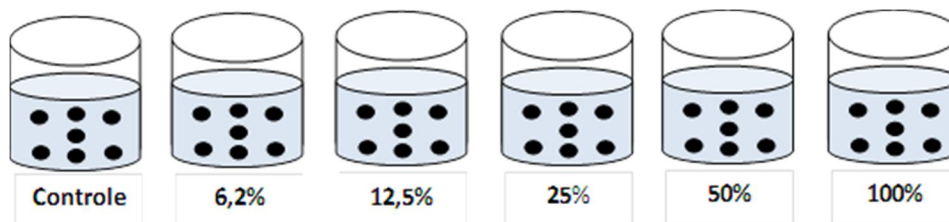


Figura 2. Teste preliminar de toxicidade aguda com as *Daphnias*.

Após tomar conhecimento das concentrações no teste preliminar, preparam-se diluições das concentrações da amostra para o teste definitivo. A preparação do teste agudo foi realizada partindo da menor concentração de amostra (maior fator de diluição) para a maior concentração de amostra (menor fator de diluição), sendo iniciada pela preparação do controle. Os ensaios preliminares e definitivos foram realizados em câmara de germinação com temperatura entre 18°C e 22°C por 48h, escuro e sem alimentação.

Resultados

Caracterização Físico-Química

Os dados gerais da caracterização de acordo com a Tabela 2 mostrou grande variabilidade dos valores de máximos e mínimos e por isso adotou-se a mediana como medida central, pois a utilização da média aritmética como medida central poderia ser influenciada pelos valores encontrados nos resultados. Foi encontrado também o desvio padrão (DP) que é uma medida

da variação dos valores em torno da média e o coeficiente de variação (CV%) que é expresso como um percentual.

Para a série de sólidos a mediana da concentração de sólidos totais, voláteis e fixos foi de 3780 mgL⁻¹, 2500mgL⁻¹ e 1400 mgL⁻¹ respectivamente, sendo que a fração volátil prevaleceu nas concentrações de sólidos. A concentração de sólidos suspensos totais, voláteis e fixos obteve mediana de 2700 mgL⁻¹, 1500 mgL⁻¹ e 1000 mgL⁻¹ respectivamente sendo que a fração volátil predominou tanto nos sólidos totais com 65,7% voláteis e 34,3% fixa como nos sólidos em suspensão com 71,25% voláteis e 28,75% fixa.

Tabela 2. Determinação dos parâmetros físico-químicos dos efluentes sépticos

Parâmetros	Média	Mediana	Máximo	Mínimo	DP	Intervalo de Confiança 95%	%CV
Temperatura (°C)	28.36	28.8	30	26	1.25	27.6 – 29.0	4.4
Condutividade (µs/cm)	2122	1976	2848	1239	440	1878 - 2365	20.74
pH	7.0	6.97	7.8	5.51	0.57	6.6 – 7.1	8.25
Alcalinidade (mgL ⁻¹ CaCO ₃)	627.37	616	1524	77.5	348.9	453- 800	55.61
DQO (mgL ⁻¹ O ₂)	7067.25	2976.5	34432	124	9536.92	1985.38 – 12149.72	134.95
DBO (mgL ⁻¹ O ₂)	1462.52	530	12175	120	2840	2.26 – 2922.79	194.19
ST (mgL ⁻¹)	8171	3780	4140	1220	10537.71	3092 - 13250	128.96
STV (mgL ⁻¹)	5364	2500	27200	800	6950	2014 - 8714	129.55
STF (mgL ⁻¹)	2806	1400	14200	280	3629	1056 - 4555	129.33
SST (mgL ⁻¹)	5032	2700	28000	500	7340.78	1494 - 8570	145.86
SSV (mgL ⁻¹)	3586	1500	21000	400	5676.9	849.92 – 6322.28	158.3
SSF (mgL ⁻¹)	1446	1000	7000	100	1751,22	602,62 - 2290,74	121,05
N Orgânico (mgL ⁻¹ N)	50.03	40.7	109.8	14.0	31.57	27.45 – 72.62	63.1
Amônia (mgL ⁻¹ N)	62.85	58.94	201	14.7	26.12	36.46 – 89.34	41.56
NTK (mgL ⁻¹ N)	107.01	99.53	199	29.41	47.65	73.07 – 140.94	44.53
Fósforo (mgL ⁻¹ P)	10.44	4.36	54.7	1.1	15.8	2.02 – 18.86	151.34

Para a serie de nitrogênio apresentou valor de mediana de 58.94 mgL⁻¹N para amônia, o nitrogênio orgânico no valor de 40.7 mgL⁻¹N e o NTK apresentou uma mediana no valor de 99.53 mgL⁻¹N. Observa-se que o nitrogênio amoniacal predominou sobre a o nitrogênio orgânico, logo o nitrogênio amoniacal representa 59,2% e o nitrogênio orgânico 40,8% sendo a amônia a maior parcela do NTK. A predominância da amônia pode acontecer pelo fato que, em meio anaeróbio ocorrer à fase de amonificação, onde o nitrogênio orgânico é convertido em amônia e na ausência do oxigênio a amônia não sofre o processo de nitrificação, demonstrando boa amonificação da matéria orgânica.

As variações dos resultados demonstram grande variabilidade das amostras, pois depende bastante do tipo de esgotamento sanitário, do tipo de região. A Tabela 3 compara os resultados de diversos autores que analisaram os efluentes de fossa séptica em diversas regiões do País, onde se observa resultados de mediana bem ampla para cada variável analisada.

Os valores encontrados foram bem próximos ao estudo feito por Ratis (2009) que avaliou os resíduos de caminhões limpa-fossa da cidade de Natal-RN. Tanto o estudo feito por Ratis (2009) como o estudo feito em Fortaleza determinou que a fração de sólidos voláteis prevaleceu nos dois estudos e com relação às frações de nitrogênio a que prevaleceu foi a amônia.

Tabela 3. Comparação da mediana de diversos autores para caracterização efluentes sépticos

Parâmetros	Leite et al. (2006)	Jordão e Pessoa (2005)	Ratis (2009)	A autora (2014)
pH	-	-	6.68	6.97
Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L ⁻¹)	-	-	391	616
Condutividade (µS/cm)	-	-	964	1976
DBO (mg O ₂ L ⁻¹)	1863	6000	973	530
DQO (mg O ₂ L ⁻¹)	9419	-	3549	2976.5
Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)	9267	-	3557	3780
Sólidos Suspensos Totais (mg.L ⁻¹)	-	15000	2.264	2700
Sólidos Totais Fixos (mg.L ⁻¹)	4399	-	955	1400
Sólidos Suspensos Voláteis (mg.L ⁻¹)	-	7000	1605	1500
Sólidos Totais Voláteis (mg.L ⁻¹)	4868	-	2480	2500
Nitrogênio Total (mg N.L ⁻¹)	-	700	92.6	99.53
Nitrogênio Amoniacal (mg. NL ⁻¹)	-	400	64.6	58.94
Fósforo Total (mg. P L ⁻¹)	-	250	40.3	4.36

Ensaio de toxicidade (Sensibilidade - Carta Controle)

Para a construção da carta controle foram calculados a média dos resultados de CE (I)₅₀ (X), coeficiente de variação (CV) e dois valores de desvios-padrão (2σ) superior e inferior a média obtida, onde esses valores foram grafados na carta controle através de linhas perpendiculares ao eixo que apresenta os resultados dos ensaios de toxicidade. Segundo a ABNT 12713/2009 os resultados que ultrapassarem os limites de controle ($\pm 2\sigma$) ao longo do tempo não devem ser utilizados na carta controle.

De acordo com a Figura 5 pode-se observar que os resultados de CE₅₀ para os ensaios de sensibilidade realizados com a *Daphnia magna*, estão dentro dos limites superior (LS) e inferior (LI) da carta controle indicando que o cultivo foi realizado de maneira correta, validando os testes de toxicidade. O valor médio encontrado de CE₅₀ foi de 1.25 que está dentro da faixa estabelecida para *Daphnia magna* (0.6 a 1.7 mgL⁻¹K₂Cr₂O₇) de acordo com a norma ISO 6341/96. Os valores de obtidos de LS =1.6 e LI =0.90 (que correspondem às linhas azuis) foram grafados na carta controle. O CV obtido foi de 12,48% e o DP foi de 0.16.

O ensaio de sensibilidade com o organismo *Daphnia similis* foi realizado em um período de 48h, onde foi encontrado um valor médio de 0.075 que está dentro da faixa estabelecida para *Daphnia similis* (0.04 a 0.17 mgL⁻¹K₂Cr₂O₇). A Figura 5 mostra a carta controle com os LI e LS grafados com valores de 0.033 e 0.127 respectivamente. O CV obtido foi de 26,7% e DP = 0.02.

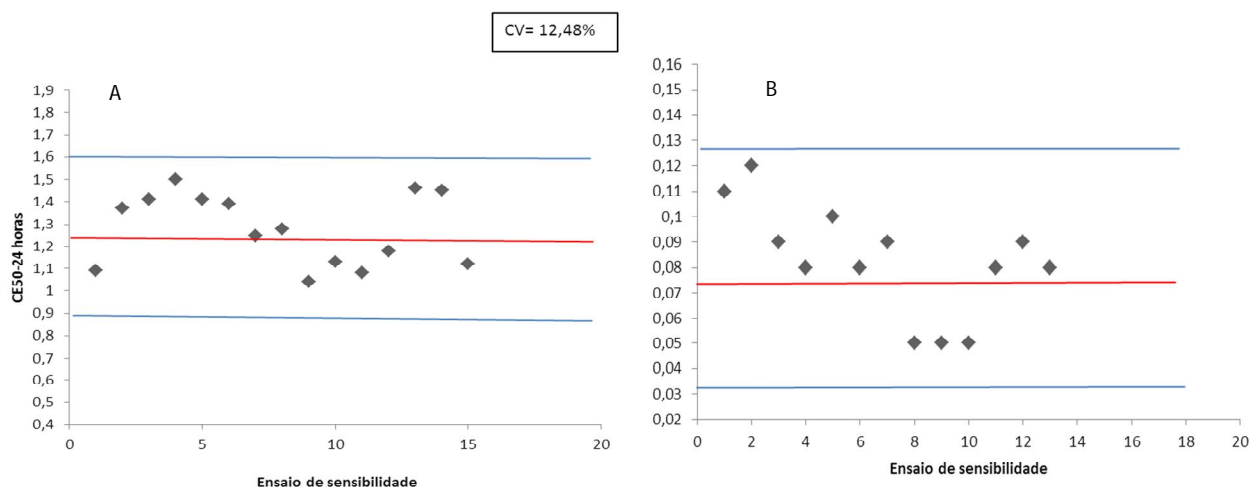


Figura 5. A. Carta controle de sensibilidade com o organismo *Daphnia magna* exposta ao dicromato de potássio em 24h de exposição. B. Carta controle de sensibilidade com o organismo *Daphnia similis* exposta ao dicromato de potássio em 48h de exposição

As amostras apresentaram para os parâmetros de dureza valores de 161 mgCaCO₃/L e oxigênio dissolvido de 1,5mgO₂/L. Os valores da concentração de oxigênio dissolvido foram baixos, e para não haver interferência, as amostras foram aeradas num período de uma hora para que o oxigênio dissolvido aumentasse e o valor não comprometesse os resultados.

Para os testes de toxicidade os resultados de CE₅₀ 48h para os ensaios de toxicidade com os organismos *Daphnia magna* e *Daphnia similis* apresentaram toxicidade aguda (Tabela 4), de acordo com a classificação para toxicidade de Bulich (1992).

Tabela 4. Resultado do CE50% para o teste de toxicidade com os organismos *Daphnia similis* e *Daphnia magna*

Teste de toxicidade aguda com Daphnia- 48h			
Daphnia Magna		Daphnia Similis	
CE50 48h (%)	Classificação BULICH	CE50 48h (%)	Classificação BULICH
45	Tóxica	34	Tóxica
58	Moderadamente tóxica	32	Tóxica
37	Tóxica	58	Moderadamente Tóxica
69	Moderadamente tóxica	57	Moderadamente tóxica
55	Moderadamente tóxica	49	Tóxica
49	Tóxica	37	Tóxica
44	Tóxica	26	Tóxica
89	Levemente Tóxica	52	Moderadamente Tóxica
26	Tóxica	21	Muito Tóxica
50	Tóxica	27	Tóxica
55	Moderadamente tóxica	38	Tóxica
71	Moderadamente Tóxica	63	Moderadamente Tóxica
Média = 54%		Média = 41,2%	

Todas as amostras de resíduos de caminhão limpa-fossa apresentaram toxicidade para os organismos *Daphnia magna* onde o CE₅₀ variou entre 26% e 71%, com média de 54%. Para *Daphnia similis* o CE₅₀ variou entre 21% e 63%, com média de 41% sendo que o organismo *Daphnia similis* foi o que apresentou maior sensibilidade aos efluentes de fossa séptica, pois foi o que obteve o menor CE₅₀ nas amostras, sendo que os organismos-testes apresentaram sensibilidades diferentes quando expostos aos efluentes de fossa séptica.

Conclusão

Este estudo demonstrou que os efluentes de fossa séptica apresentam grande variabilidade dos resultados, devido a diferentes municípios de onde foram coletados os caminhões limpa-fossa, por isso a importância de utilizar a mediana como padrão. Apresentaram alta toxicidade aguda para os microrganismos *Daphnia magna* e *Daphnia similis* devido principalmente a altas

concentrações de amônia que é considerada tóxica devido ao pH neutro. Deste modo, os de testes de toxicidade confirmam que esta é uma ferramenta prática e vantajosa na avaliação da toxicidade de efluentes, apresentando respostas rápidas e seguras para o controle da qualidade ambiental.

Referências bibliográficas

- APHA, Standard Methods for the examination of water and wastewater. (2005) 21^a ed. Washington, American Public Health Association.
- ABNT, Associação Brasileira De Normas Técnicas. (2009). NBR 12713:2009. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp.* 23 pp
- Bulich, A.A (1982). A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic, *Process Biochemistry*, **2**,45-47.
- Coelho, R.S. (2006) *Avaliação da toxicidade de fluidos de usinagem através da ecotoxicologia aquática*. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos, São Paulo, Brasil.
- Costa, C.R., Olivieri, P., Botta, C.M.R., Espindola, E.L.G.(2008) A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, **31**(7), 1820-1830.
- David, E., Jon, P.G., Elin, E., Lin, Y., Ann-Kristin.E., Emelie, L. (2014) Phosphorus in soil treatment systems: Accumulation and mobility, *Water Research*, **64**, 42-52.
- Faustino, A. S. (2007) *Estudos físico-químicos do efluente produzido por fossa séptica biodigestora e o impacto do seu uso no solo*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil.
- Grotto, D., Carneiro, M.F.H., Garcia, S.C., Sauer, E., Melo, W.J. (2013) Evaluation of biochemical and redox parameters in rats fed with corn grown in soil amended with urban sewage sludge. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **95**, p. 188-194.
- ISO 6341, International Organization for Standardization. (1996) Water Quality- Determination of the inhibition of mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera –Crustacea).
- Jordão, E.P.,Pessoa, C.A. (2005) *Tratamento de esgotos domésticos*. CIDADE: Segrac,404 pp.
- Leite, B.Z.,Ingunza, M.P.D., Andreoli, C.V. Lodo de decanto-digestores. (2006) Alternativas de uso de resíduos do saneamento. Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, Brasil.
- Lopus, S.E., Bachand, P.A.M., Heyvaer, T A.C., Werner, I., The S.J., Reuter, J.E. (2009) Potential toxicity concerns from chemical coagulation treatment of stormwater in the Tahoe basin, California, USA. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **72**, 1933–1941.
- Paiva, A.B. (2004) *Avaliação de risco ambiental utilizando parâmetros físico-químicos e biológicos no rio Canoas/SC*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental, Universidade de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil.
- Kapanen, A.,Vikman, M., Rajasärkkä, J., Virta, M.(2013) Biotests for environmental quality assessment of composted sewage sludge. *Waste Management*, **33**(6),1451-1460.
- Ratis, A. N. F. A. (2009) *Caracterização dos resíduos esgotados de sistemas de tratamento individual de esgotos domésticos de Natal*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Sanitária, Universidade do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.
- Sousa, M.R. (2010) *Utilização de ensaios de ecotoxicidade no biomonitoramento de efluentes de ETEs industriais, hospitalares e de aterro sanitário, localizadas na região metropolitana de Fortaleza*. Dissertação de Mestrado em Saneamento Ambiental. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil.
- Von Sperling, M. (2005) Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Introdução *à qualidade das águas e o tratamento de esgotos*. 3^o Ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFGM, 452pp.
- Zagatto, P.A., Bertoletti, E. (2008) Ecotoxicologia Aquática - APHA (2005) *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 21^a ed. Washington: American Public Health Association.