

Biodisponibilidade de Contaminantes em Solos Tropicais Acrescidos de Lodo de Esgoto Utilizando Bioensaios com Oligoquetas

Marianna Barbosa da Silva

Bolsista de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, UFRJ

Silvia Gonçalves Egler

Orientadora, Bióloga, M. Sc.

Ricardo Gonçalves Cesar

Co-orientador, Geologia Ambiental, M. Sc.

Resumo

O lodo de esgoto (LE), resíduo proveniente das estações de tratamento de efluentes, tem sido amplamente utilizado como insumo na agricultura, devido aos seus altos teores de matéria orgânica e nutrientes. Contudo, o LE contém agentes tóxicos capazes de causar efeitos adversos aos ecossistemas. No presente estudo foram realizados bioensaios com oligoquetas (*Eisenia andrei*) para avaliação da toxicidade de diferentes doses de lodo de esgoto em duas classes de solos: latossolo e chernossolo. Os resultados indicaram que as propriedades naturais dos solos estudados desempenharam papel importante na toxicidade, com atenção especial à presença de argilas do tipo 2:1. Os resultados com testes de bioacumulação ainda demonstraram que os agentes tóxicos presentes no LE foram capazes de inibir e/ou afetar a reprodução dos oligoquetas. Espera-se que esses resultados possam fornecer subsídios importantes à determinação de uma dose sustentável de LE para solos tropicais, através da integração desses resultados com aqueles obtidos com outros organismos.

1. Introdução

A expansão da indústria e dos centros urbanos tem estimulado o aumento da produção de resíduos, os quais demandam por uma disposição final adequada. Dentre os diferentes tipos de resíduos, o lodo de esgoto (LE) – resíduo sólido gerado em estações de tratamento de efluentes – merece posição de destaque, uma vez que tem sido extensivamente utilizado como insumo na agricultura. Seu largo emprego na agricultura decorre principalmente dos seus elevados teores de nutrientes e de carbono orgânico, capazes de modificar características físicas (porosidade, permeabilidade, agregabilidade) e químicas (fertilidade) dos solos, possibilitando o cultivo de gêneros agrícolas não adaptados às condições ambientais originais (Liu et al., 2005).

A presença de metais tóxicos e de microorganismos patogênicos constitui a principal restrição ao uso do LE na agricultura (Liu et al., 2005). Em geral, os teores de metais no LE são extremamente elevados em comparação às concentrações usualmente observadas nos solos (Selivanovskaya & Latypova, 2003). Como consequência, a incorporação de metais pela pedofauna pode favorecer a inserção destes poluentes na cadeia trófica terrestre (Selivanovskaya & Latypova, 2003), além de inviabilizar o consumo humano de gêneros agrícolas e alterar a atividade microbiana do solo. Ademais, a lixiviação dos solos acrescidos de LE pode promover a mobilização de contaminantes em direção aos sistemas fluviais circunvizinhos, prejudicando a biota aquática.

Dentre os metais pesados, o mercúrio (Hg) vem recebendo uma atenção especial da comunidade científica devido à sua elevada toxicidade. Embora não possua função biológica para qualquer organismo, a forma orgânica do Hg (metilmercúrio – MeHg) é facilmente acumulada pela biota (WHO, 1990). Organismos expostos ao MeHg comumente apresentam distúrbios neurológicos e no sistema reprodutor. Alguns autores ainda reportam a existência de fenômenos de bioacumulação e biomagnificação na cadeia trófica, especialmente em ambientes aquáticos, com sérios prejuízos aos ecossistemas (WHO, 1990).

A maior parte dos estudos de avaliação de risco ambiental está tradicionalmente calcada em análises químicas totais, especiação química e extração seqüencial de fases geoquímicas com elevado potencial de biodisponibilidade (Selivanovskaya & Latypova, 2003; Cesar et al., 2008). Entretanto, essas abordagens analíticas não permitem a avaliação da toxicidade mista decorrente da atuação simultânea de distintos poluentes presentes no ambiente, bem como não levam em consideração seus efeitos ecológicos sobre a pedosfera. Neste sentido, testes ecotoxicológicos (ou bioensaios) constituem uma alternativa interessante na determinação da fração biodisponível dos contaminantes e dos níveis de toxicidade ambiental através do monitoramento de efeitos letais, morfológicos, comportamentais, fisiológicos, citogenéticos e bioquímicos nos organismos expostos aos poluentes (Neuhauser et al., 1985). Em avaliações de risco ecológico, distintos organismos terrestres (oligoquetas, colembolas, vegetais) e aquáticos (algas, poliquetas, microcrustáceos e peixes) são utilizados como biondicadores, de modo a abranger diferentes níveis tróficos e diagnosticar os impactos nos ecossistemas.

No caso dos solos, o emprego de oligoquetas na avaliação da biodisponibilidade de substâncias tóxicas vem sendo amplamente observado na comunidade científica (Neuhauser et al., 1985; Liu et al., 2005; Burton et al., 2006). A utilização destes organismos em testes de ecotoxicidade esta baseada no papel fundamental que desempenham na macro-pedofauna, pela abundante presença em solos tropicais e temperados (Nahmani et al., 2007), e pelo fácil cultivo e reprodução em laboratório. Ademais, além de possuírem a capacidade de modificar características físicas e químicas do solo, os oligoquetas servem de alimento para diversas espécies de animais (elo importante da cadeia trófica terrestre), ingerem grande quantidade de solo, representam a maior parte da biomassa do solo (quando existentes) e seu tecido de preenchimento (celoma) possui elevado potencial de acumulação de metais pesados (Liu et al., 2005).

No presente estudo foram realizados bioensaios com oligoquetas (*Eisenia andrei*) para avaliação da toxicidade de diferentes doses de LE em duas classes de solos: latossolo e chernossolo, visando a determinação de uma dose sustentável de LE para a agricultura tropical.

2. Materiais e Métodos

O LE utilizado neste trabalho é oriundo da Estação de Tratamento da Ilha do Governador (ETIG), na cidade do Rio de Janeiro. Neste mesmo município, foram coletadas as amostras de horizonte B dos solos (latossolo e chernossolo). A escolha do horizonte B para o estudo decorre do fato de que o horizonte A comumente sofre processos erosivos em áreas de manejo irregular, e por essa forma, optou-se por estudar o potencial tóxico do LE para este último horizonte.

A dose inicial de LE utilizada nos experimentos seguiu aquela descrita em Cesar et al. (2008), com bases nas recomendações de Tsutiya (2000 *apud* Alamino et al., 2007), que adota a proporção de 112 ton lodo/ha, para fins de recuperação de áreas degradadas. Sendo assim, o latossolo foi inicialmente acrescido de 6,66% de LE, e o chernossolo de 6,58% e as demais doses seguiram uma progressão aritmética dos valores iniciais.

O procedimento laboratorial adotado para o teste de toxicidade aguda com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei* (Figura 1.A e 1.B), seguiu a norma ASTM (2004). Sendo assim, foram utilizadas 600 g de cada sub-amostra e de solo artificial para o controle (ensaio em triplicata), sendo a umidade e pH ajustados para 45% e 7, com a adição de água destilada e de carbonato de cálcio (CaCO₃), respectivamente. O monitoramento da umidade foi efetuado por gravimetria (24 horas em estufa a 105 °C). O solo controle seguiu as recomendações de ASTM (2004, Anexo A.2) e Garcia (2004), 70% de areia, 20% de caulim e 10% de pó de casca de coco.

A transposição de HgT para os organismos sobreviventes foi avaliada através do cálculo do Fator de Bionconcentração (FBC), expresso pela razão entre o teor do metal no organismo e a concentração no solo. Os valores finais dos FBCs foram obtidos pela subtração dos valores de HgT analisados nos organismos retirados das culturas .



Figura 1. Aspecto de oligoqueta da espécie *Eisenia andrei* (A); Teste de toxicidade aguda com oligoquetas realizado no Laboratório de Ecotoxicologia do CETEM (B).

O teste de bioacumulação seguiu a norma da ASMT (2004), que recomenda a exposição dos organismos-teste (*Eisenia andrei*) em duas fases distintas: a de bioacumulação, na qual os oligoquetas são expostos durante 28 dias ao latossolo acrescido de LE, a fim de mensurar a transposição do contaminante; e a fase de depuração, na qual os organismos são transferidos para solo artificial de modo a analisar a capacidade de eliminação do contaminante pelos oligoquetas, igualmente por um período de 28 dias. De modo análogo ao teste de toxicidade aguda, a constituição do solo artificial usado no controle seguiu as recomendações de Garcia (2004). Para a obtenção da concentração de LE que não acarretasse mortalidade nos organismos foi utilizado o limite inferior de 95% do intervalo de confiança da CL50% do teste agudo (calculada com o programa Trimmed Spearman Karber Method, versão 1.5 - www.epa.gov/nerleerd/stat2.htm)

O método quantitativo adotado para a determinação de mercúrio total (HgT) em amostras geoambientais e biológicas foi baseado na pirólise da amostra, sendo a determinação analítica efetuada com o equipamento analisador portátil de Hg LUMEX. Antes de serem analisados, os oligoquetas sobreviventes, no teste de

toxicidade aguda, foram previamente congelados e liofilizados. Para garantir a qualidade dos resultados gerados, as amostras foram analisadas em, no mínimo, duplicata e comparadas aos resultados de análises realizadas com amostras certificadas (NIST 1633b).

3. Resultados e Discussão

3.1 Mercúrio total nos solos acrescidos de LE

As duas classes de solo analisadas, quando acrescidas de LE, apresentaram teores de HgT acima do limiar de referência recomendado por CETESB (2005). No caso do chernossolo, as doses IV e V ficaram acima do limite de prevenção, enquanto no latossolo as doses III, IV e V estiveram acima do referido limite (Tabela 1).

A quantificação do teor de HgT no LE revelou a concentração de 1755 ng/g. Este teor está em concordância com o valor estabelecido pela resolução 375 do CONAMA (2006), que recomenda a concentração de 17000 ng/g como limite máximo de qualidade para uso na agricultura. É importante ressaltar que esta concentração não foi estabelecida com base em indicadores ecotoxicológicos, o que demonstra claramente a importância da realização de bioensaios na avaliação dos efeitos ecológicos que os xenobiontes presentes no LE podem causar a fauna do solo.

Tabela 1 – Teor de mercúrio total nos latossolos e chernossolos acrescidos de distintas doses de lodo de esgoto

Dose/Classe de Solo		Lodo (%)	Hg (ng/g)
<i>in natura</i>	chernossolo		38,5
	latossolo		97*
1	chernossolo	6,66	151,45*
	latossolo	6,58	190,26*
2	chernossolo	13,16	302,9*
	latossolo	13,32	380,52*
3	chernossolo	19,74	454,35*
	latossolo	19,98	570,78**
4	chernossolo	26,32	605,8**
	latossolo	26,64	761,04**
5	chernossolo	32,9	757,25**
	latossolo	33,33	951,3**

Nota: valores orientadores recomendados por CETESB (2005): * - acima do limite de referência (50 ng/g); ** - acima do limite de prevenção (500 ng/g).

3.2 Teste de toxicidade aguda

No latossolo a partir da dose II ocorreu mortalidade maior do que no controle. Entretanto, no chernossolo, não houve letalidade dos organismos, mesmo aqueles expostos a dose mais alta de LE (dose V) (Figura 2). Estas constatações sugerem que as propriedades naturais das duas classes de solo estudadas desempenharam papel fundamental nos mecanismos de biodisponibilidade dos agentes tóxicos presentes no lodo. Neste sentido, é importante destacar a presença de argilominerais do tipo 2:1 no chernossolo (Cesar et al., 2008), com alto

potencial de adsorção de cátions, capazes de diminuir substancialmente os teores dos contaminantes na solução do solo. Uma vez que, no caso dos oligoquetas, a principal via de exposição à contaminação é a cutânea (epiderme) (Vijver et al., 2003), os metais em solução correspondem à fração geoquímica de maior relevância em termos de transposição (absorção e/ou acumulação) de contaminantes para estes organismos. Matzke et al. (2008) descreveram comportamento semelhante ao estudar a toxicidade de substâncias orgânicas para duas espécies de vegetais (*Triticum aestivum* e *Lepidium sativum*), e verificaram uma diminuição do potencial de biodisponibilidade associada à presença de argilas do tipo 2:1 (esmectitas), em detrimento aos argilominerais 1:1 (abundantes em latossolos).

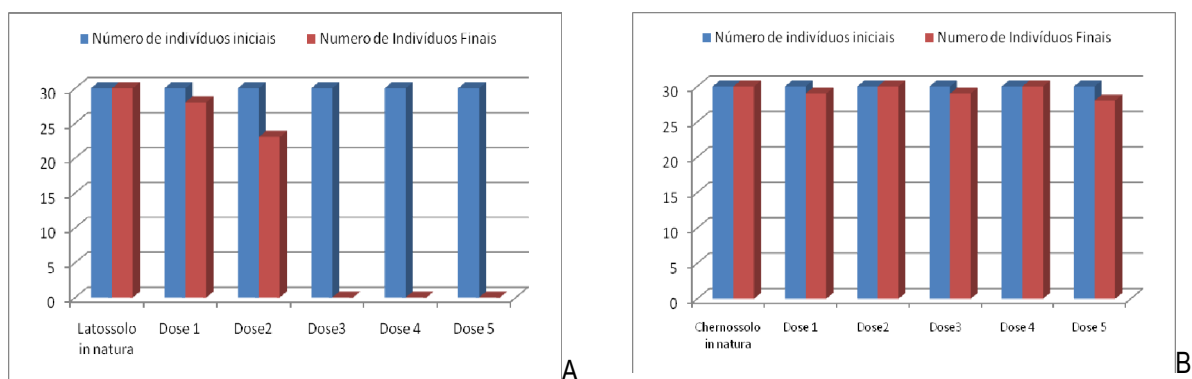


Figura 2. Letalidade dos organismos expostos ao teste de toxicidade aguda com o latossolo (A) e chernossolo (B)

Os resultados referentes à transposição de HgT para organismos sobreviventes revelaram, como esperado, uma relação diretamente proporcional entre a bioconcentração de Hg e as doses de LE, para ambos os solos (Figura 3). A maior parte dos FBCs ficou abaixo de uma unidade, sugerindo que os organismos somente absorveram o contaminante do solo, mas não bioacumularam (Liu et al., 2005) (Figura 3). De fato, Cocking et al. (1991 *apud* Burton et al., 2006) e Cesar et al. (2008) apontam que os FBCs para HgT em oligoquetas são freqüentemente menores do que uma unidade, o que possivelmente pode estar atrelada a uma maior excreção do Hg pelos organismos.

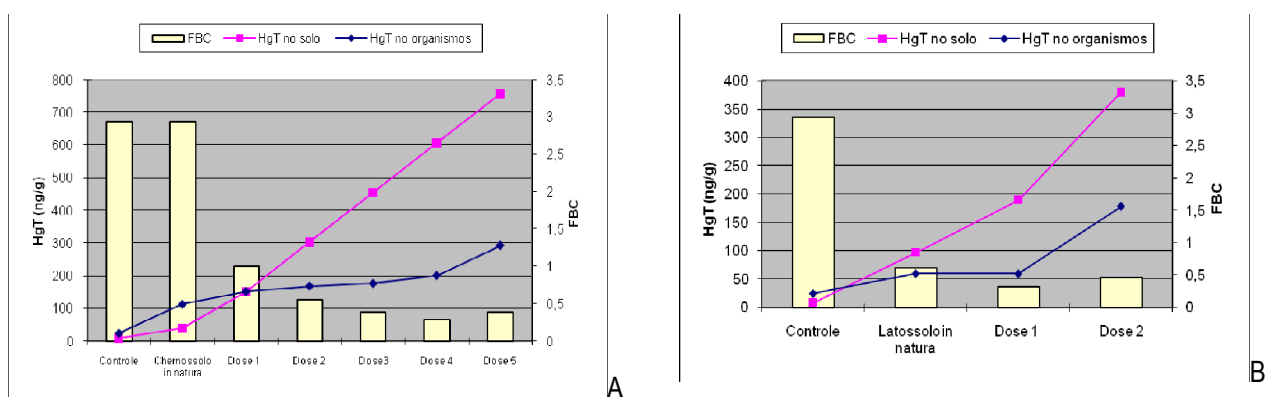


Figura 3. Teor de mercúrio total nos solos, organismos sobreviventes e fatores de bioconcentração para o chernossolo (A) e o latossolo (B).

3.3 Teste de Bioacumulação

O valor da dose de LE utilizada no teste de bioacumulação com o latossolo foi de 8,14% (valor inferior do limite de 95% de confiança obtido no teste agudo). No decorrer deste ensaio, foi possível constatar que, em comparação ao grupo controle, no latossolo acrescido de LE a reprodução dos oligoquetas foi afetada, uma vez que não foi constatada a presença de casulos no solo-teste ao final dos primeiros 28 dias de exposição. Esta observação pode estar relacionada à presença de agentes tóxicos teratogênicos no LE, como por exemplo o Hg, cuja forma orgânica é fetotóxica.

Ao final dos primeiros 28 dias de exposição, foi observada a letalidade de 20% dos organismos testados no solo-teste. É interessante destacar que a dose empregada neste ensaio corresponde àquela que não provocaria efeitos letais representativos em um teste agudo. Estas observações realçam a elevada toxicidade crônica associada à dose empregada, provocando efeitos letais e de reprodução nos organismos.

4. Conclusão e trabalhos futuros

As propriedades naturais dos solos estudados desempenharam papel importante na biodisponibilidade dos contaminantes presentes no LE, com especial atenção à presença de argilas do tipo 2:1 no chernossolo na diminuição da toxicidade. O teste de bioacumulação demonstrou que os agentes tóxicos foram capazes de causar efeitos à reprodução dos oligoquetas. Em trabalhos futuros, será realizada a quantificação de outros metais tóxicos nos oligoquetas sobreviventes, de modo a avaliar a acumulação desses elementos por esses organismos.

5. Agradecimentos

Ao CNPq, pela bolsa concedida; aos meus orientadores Silvia Egler e Ricardo Cesar pela orientação; às colaboradoras, Helena Polivanov e Renata Alamino do Depto. de Geologia/UFRJ por cederem o material para a realização deste trabalho.

6. Referências Bibliográficas

ALAMINO, R.C.J.; POLIVANOV, H.; CAMPOS, T.M.P.C.; SILVA, V.H.G.; SANTOS, L.V. & MENDES, J.C. Biodisponibilidade de cádmio em latossolo acrescido de lodo de esgoto. **Anuário do Instituto de Geociências** (Rio de Janeiro), v.30 (2), p. 45-54, 2007.

ASTM (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS). Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm *Eisenia fetida* and the Enchytraeid Potworm *Enchytraeus albidus*. ASTM – E 1676, 2004.

BURTON, D.T; TURLEY, S.D.; FISHER, D.J.U.; GREEN, D. J.; SHEDD, T. R. Bioaccumulation of total mercury and monomethylmercury in the earthworm *Eisenia fetida*. **Journal of Water, Air and Soil Pollution**, v. 170, p. 37-54, 2006.

CESAR, R. G.; EGLER, S. G.; ALAMINO, R. C. J.; POLIVANOV, H.; SILVA, R. C.; CASTILHOS, Z. C.; ARAÚJO, P. Avaliação do potencial tóxico de latossolos e chernossolos acrescidos de lodo de esgoto utilizando bioensaios com oligoquetas da espécie *Eisenia andrei*. **Anuário do Instituto de Geociências**, v.31 (2), p. 53-60, 2008.

CETESB (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL). **Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo, março 2005. Disponível em:<http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acessado em: 28 mar. 2005.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. 2006. Resolução nº 375 de 29 de agosto de 2006. 6p. Disponível em:<<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>>. Acessado em: Maio/2007.

GARCIA, M. Effects of pesticides on soil fauna: Development of ecotoxicology test methods for tropical regions. In: VLEK, P.L.G. et al. (Eds.). **Ecology and Development Series**, v. 19, Cuvillier Verlag Gottingen, 2004, 282 p.

LIU, X.; CHENGXIAO, H.; ZHANG, S. Effects on earthworm activity on fertility and heavy metals bioavailability in sewage sludge. **Environment International**, v. 31, p. 874-879, 2005.

MATZKE M.; STOLTE, S.; ARNING, J.; UEBERS, U.; FILSER, J. Imidazolium based ionic liquids in soils: effects of the side chain length on wheat (*Triticum aestivum*) and cress (*Lepidium sativum*) as affected by different clays and organic matter. **Green Chemistry**, v. 10, p. 584-591, 2008.]

NAHMANI, J.; HODSON, M.E.; BLACK, S. A Review of Studies Performed to Assess Metal Uptake by Earthworms. **Environmental Pollution**, v. 145, p. 402-424, 2007.

NEUHAUSER, E.F.; LOEHR, R.C.; MILLIGAN, D.L.; MALECKI, M. R. Toxicity of metals to the earthworms *Eisenia foetida*. **Biology and Fertility of Soils**, v. 1, p. 149-152, 1985.

SELIVANOVSKAYA, S. Y.; LATYPOVA, V. Z. The use of bioassays for evaluating the toxicity of sewage sludge and sewage sludge-amended soil. **Journal of Soils & Sediments**, v.3 (2), p. 85-92, 2003.

VIJVER, M.G.; VINK, J.P.M.; MIERMANS, C.J.H. ; GESTEL, C.A.M. Oral sealing using glue: a new method to distinguish between intestinal and dermal uptake of metals in earthworms. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.125-132, 2003.

WHO (World Health Organization). Environmental Health Criteria for Methylmercury. Geneva, p. 34. 1990.