UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CILINDROSPERMOPSINA, ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO E EFLUENTE FINAL DA ETE PARANOÁ-DF ATRAVÉS DE SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO DE *MONORAPHIDIUM CAPRICORNUTUM*.

FERNANDA LUÍSA BEMQUERER ROCHA

ORIENTADORA: RAQUEL MORAIS SOARES

MONOGRAFIA DE PROJETO FINAL EM ENGENHARIA AMBIENTAL 2

BRASÍLIA/DF: FEVEREIRO/2023

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CILINDROSPERMOPSINA, ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO E EFLUENTE FINAL DA ETE PARANOÁ-DF ATRAVÉS DE SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO DE *MONORAPHIDIUM CAPRICORNUTUM*.

FERNANDA LUÍSA BEMQUERER ROCHA

MONOGRAFIA DE PROJETO FINAL SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL E AMBIENTAL DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE BACHAREL EM ENGENHARIA AMBIENTAL.

APROVADA POR:

_____

RAQUEL MORAES SOARES, DRa. (PROFa. ENC-FT/UNB)
(ORIENTADORA)

_____

RICARDO TEZINI MINOTI, DR. (PROF. ENC-FT/UNB)
(EXAMINADOR INTERNO)

_____

DANIEL CARDENAS VALENCIA, (DOUTORANDO – ENC-FT/ UNB)
(EXAMINADOR EXTERNO)

DATA: BRASÍLIA/DF, 03 DE FEVEREIRO DE 2023.

FICHA CATALOGRÁFICA

BEMQUERER ROCHA, FERNANDA LUÍSA

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CILINDROSPERMOPSINA, ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO E EFLUENTE FINAL DA ETE PARANOÁ-DF ATRAVÉS DE SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO DE MONORAPHIDIUM CAPRICORNUTUM.

ix, 69 p., 297 mm (ENC/FT/UnB, Bacharel, Engenharia Ambiental, 2023)

Monografia de Projeto Final – Universidade de Brasília, Faculdade de Tecnologia. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental.

1. EFLUENTE FINAL	2. LAGOA DE ESTABILIZAÇÃO
3. ECOTOXICOLOGIA	4. CONTAMINANTES EMERGENTES
I. ENC/FT/UnB	II. Título (série)

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ROCHA, F. L. B. (2023). *AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CILINDROSPERMOPSINA, ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO E EFLUENTE FINAL DA ETE PARANOÁ-DF ATRAVÉS DE SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO DE MONORAPHIDIUM CAPRICORNUTUM.* Monografia de Projeto Final, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 69 p.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: FERNANDA LUÍSA BEMQUERER ROCHA

TÍTULO DA MONOGRAFIA DE PROJETO FINAL: AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE CILINDROSPERMOPSINA, ÁCIDO PERFLUOROOCTANÓICO E EFLUENTE FINAL DA ETE PARANOÁ-DF ATRAVÉS DE SEUS EFEITOS SOBRE O CRESCIMENTO DE *MONORAPHIDIUM CAPRICORNUTUM*.

GRAU / ANO: Bacharel em Engenharia Ambiental / 2023

É concedida à Universidade de Brasília a permissão para reproduzir cópias desta monografia de Projeto Final e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia de Projeto Final pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

_____

NOME FERNANDA LUÍSA BEMQUERER ROCHA

EMAIL NANDA.BEMQUERER@GMAIL.COM

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, por todas as oportunidades de estudo e apoio que sempre me deram. Meus pais Márcia e Anderson, minha irmã Júlia, meus padrinhos Graça e Edson, meus avôs, primos e tios, que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram na minha jornada acadêmica desde a infância, me oferecendo tudo que eu sempre precisei para me capacitar e muito mais.

Agradeço a todos meus professores da Universidade de Brasília, por todo conhecimento transmitido, pela paciência com as minhas dúvidas e questionamentos. Em especial aos meus professores do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental (ENC): Ariuska, Conceição, Cristina, Lenora, Yovanka, Alexandre, Carlos, Francisco, Nestor, Oscar, Ricardo e Sérgio. Agradeço ao CNPQ pela bolsa de pesquisa.

Agradeço a todos os meus colegas de curso, as noites que viramos juntos fazendo trabalhos das disciplinas e estudando. A paciência quando eu pedia para terminarmos os trabalhos dias antes da entrega, para termos tempo de revisar e garantir que estava tudo certo ou nas vésperas de prova quando eu ficava muito ansiosa.

Agradeço a todos os meus amigos de fora da Universidade, por entenderem todas as vezes que eu disse que não poderia ir a algum programa, pois teria que estudar, por sempre me apoiarem nas minhas decisões acadêmicas e por irem a UnB estudar comigo.

Agradeço por fim a minha querida orientadora Raquel, que esteve comigo, de perto, me norteando, ensinando e apoiando na execução desde projeto. Às servidoras técnicas do Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) da UnB, Carla P. e Carla V., às alunas de mestrado do PTARH, Sarah e Helzalyce, ao aluno de doutorado do PTARH, Daniel, que me ajudaram muito neste último semestre e a minha banca.

RESUMO

A ETE Paranoá, localizada no Distrito Federal, opera realizando o tratamento biológico de efluentes, por Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UASB) seguido de Lagoa de Alta Taxa e o corpo receptor do efluente tratado é o rio Paranoá, que conflui para o rio São Bartolomeu. Sabendo da importância hídrica nacional de todos os corpos hídricos do Distrito Federal, é de suma importância a análise da qualidade dos efluentes lançados. Nesse contexto, a ecotoxicologia, ciência que foca na análise dos efeitos e impactos ambientais causados pelos poluentes, através da resposta de organismos indicadores, é uma boa forma para avaliar o ecossistema aquático. As cianobactérias comumente presentes em lagoas de estabilização das ETEs, se liberadas em grandes quantidades no efluente final para o corpo receptor podem impactar diretamente na comunidade aquática, especialmente quando contém cianotoxinas, como Cilindrospermopsina. Além disso, nestes efluentes existem contaminantes emergentes, como os ácidos perfluorooctanóicos (PFOA), compostos utilizados em diversos produtos e atividades industriais, de difícil remoção e alta toxicidade. Os impactos destes componentes, bem como do efluente final da ETE Paranoá, DF e os efeitos de suas misturas no crescimento da microalga *Monoraphidium capricornutum* foram analisados no presente documento. Foram seguidos os procedimentos da norma ABNT NBR 12.648 de 2018, para realização dos ensaios de toxicidade crônicos com as microalgas. Dessa forma, foram realizados ensaio de sensibilidade, ensaio preliminar e ensaios definitivos. O Efluente Final da ETE Paranoá em altas diluições mostrou-se muito prejudicial ao crescimento das clorofíceas. Cilindrospermopsina e PFOA, também inibiram o crescimento das microalgas, porém em menor escala. Nesse contexto, no efluente final desta ETE devem existir mais do que estes dois contaminantes. Este resultado é muito prejudicial para qualidade do corpo hídrico receptor, que apesar de ser classificado pela Resolução do CONAMA nº 357 de 2005 como classe 3 pode estar sendo utilizado para balneabilidade e pesca.

Palavras-chave: estação de tratamento de esgoto; efluente final; enquadramento dos corpos hídricos; lagoas de estabilização; reator anaeróbio de fluxo ascendente; lagoas de alta taxa; eutrofização artificial; comunidade fitoplanctônica; microalgas; cianobactérias; cianotoxinas; polifluroalquilados.

ABSTRACT

The ETE Paranoá, located in the Federal District, operates performing the biological treatment of effluents by Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) followed by High-Rate Lagoon and the receiving body of the treated effluent is the Paranoá River, which flows into the São Bartolomeu River. Knowing the national hydric importance of all water bodies in the Federal District, it is very important to analyze the quality of the effluents discharged in the water bodies. In this context, ecotoxicology, a science that focuses on the analysis of environmental effects and impacts caused by pollutants, through the response of indicator organisms, is a good way to evaluate the aquatic ecosystem. The cyanobacteria commonly present in stabilization ponds of WWTPs, if released in large quantities in the final effluent to the receiving body can directly impact the aquatic community, especially when it contains cyanotoxins, as culindropermopsin. Moreover, in these effluents there are emerging contaminants, such as perfluorooctanoic acids (PFOA), compounds used in various products and industrial activities, of difficult removal and high toxicity. The impacts of these components, as well as the final effluent from the ETE Paranoá, DF and the effects of their mixtures, on the growth of the microalgae *Monoraphidium capricornutum*, were analyzed in this work. The procedures of the 2018 ABNT NBR 12,648 standard were followed to perform the chronic toxicity tests with the microalgae. Thus, sensitivity test, preliminary test, and definitive tests were performed. The Final Effluent of the Paranoá WWTP at high dilutions proved to be very harmful to the growth of chlorophyceae. Cilindropermopsin and PFOA also inhibited the growth of microalgae, but to a lower extent. In this context, in the final effluent of this WWTP there must be more than these two contaminants. This result is very harmful to the quality of the receiving water body, which despite being classified by the CONAMA Resolution No. 357 of 2005 as class 3 can be used for bathing and fishing.

Keywords: sewage treatment plant; final effluent; water bodies; stabilization ponds; upflow anaerobic sludge blanket; high-rate ponds; artificial eutrophication; phytoplankton community; microalgae; cyanobacteria; cyanotoxins; polyfluroalkylated.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVOS 4

2.1. OBJETIVO GERAL 4

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 4

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 5

3.1. ASPECTOS LIMNOLÓGICOS 5

3.1.1. Corpos Lênticos e Lóticos 7

3.1.1.1. Dinâmica dos Nutrientes em Corpos Hídricos 7

3.1.1.2. Comunidade Fitoplanctônica 8

3.2. IMPACTOS AMBIENTAIS NOS AMBIENTES AQUÁTICOS 8

3.2.1. Eutrofização Artificial 8

3.2.2. Cianobactérias 10

3.2.3. Consequências no Ecossistema e Cianotoxinas 11

3.2.4. Polifluoroalquilados (PFAs) 14

3.2.5. Efeitos nas microalgas da exposição a Cilindrospermopsina e PFOA 15

3.3. TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS URBANAS 15

3.3.1. Lagoas de Estabilização 17

3.3.2. Estação de Tratamento de Esgoto do Paranoá (DF) 18

3.3.2.1. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente 20

3.3.2.2. Lagoas de Alta Taxa 21

3.3.3. Potenciais problemas das Lagoas de Alta Taxa 22

3.4. AVALIAÇÃO E CONTROLE DA POLUIÇÃO DA ÁGUA 23

3.4.1. Enquadramento dos Corpos Hídricos em Classes 23

3.4.2. Ecotoxicologia 25

4. METODOLOGIA 26

4.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL 26

4.2. LEVANTAMENTO DE DADOS E DEFINIÇÃO DA ETE DE ESTUDO 27

4.3. COLETA DE AMOSTRAS NA ETE PARANOÁ 27

4.4. ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA 28

4.4.1. Preparo do Meio de Cultivo 28
4.4.2. Cultivo da microalga 29
4.4.3. Preparo das Soluções-Estoque 31
4.4.3.1. Sulfato de Zinco Heptahidratado 31
4.4.3.2. PFOA 31
4.4.3.3. Cultivo e produção de extrato tóxico de cianobactéria 31
4.4.3.4. Efluente Final da ETE Paranoá 32
4.4.4. Preparo das Soluções-Teste (Ensaios) 32
4.4.4.1. Ensaio de Sensibilidade com Substância de Referência 36
4.4.4.2. Ensaio Preliminar 38
4.4.4.3. Ensaio Definitivo 40
4.4.4.4. Ensaio de Mistura Binária 42
4.5. FIM DA EXPOSIÇÃO E CONTAGEM DE CÉLULAS 43
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS 43
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES 45
5.1. ENSAIO DE SENSIBILIDADE COM SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA 45
5.2. ENSAIO PRELIMINAR 46
5.3. ENSAIO DEFINITIVO 48
5.4. ENSAIO DE MISTURA BINÁRIA 53
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES GERAIS 56
6. CONCLUSÕES 58
6.1. CONCLUSÃO GERAL 58
6.2. CONCLUSÕES ESPECÍFICAS 58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 59

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Mapa com as Bacias Hidrográficas do Distrito Federal (ADASA, 2011). 5
Figura 3.2 Relação entre uso e ocupação do solo e focos alteradores da qualidade da água em bacias hidrográficas (Von Sperling, 2014, Vol 1, p 14). 6
Figura 3.3. Mapa do DF ampliado com informações do IET classifica corpos lênticos em graus de trofia em ultraoligotrófico, oligotrófico, mesotrófico e eutrófico (ADASA, 2022). 9
Figura 3.4 Célula de Cianobactérias, com representação dos ribossomos, nucleóide, parede celular, cápsula, entre outras estruturas celulares (Ducat, 2011 adaptado). 10
Figura 3.5 Estrutura molecular da cilindrospermopsina (Fonte: Schneegurt, 1997). 13
Figura 3.6 Concentração de CYN em corpos de água globais (μg/L). As linhas pontilhadas e sólidas representam o valor de segurança e o valor médio encontrado, respectivamente (Yang, 2021, adaptado). 13
Figura 3.7 Estrutura molecular do PFOA. 14
Figura 3.8 Informações de Esgotamento Sanitário Brasil (SNIS, 2021). 16
Figura 3.9 Disposição, em planta, das nove Lagoas de Alta Taxa da ETE Paranoá, localizada no Distrito Federal, administrada pela CAESB (Google Earth, 2022). 18
Figura 3.10 Imagem de satélite com a localização da ETE Paranoá, próxima ao Lago Paranoá, no Distrito Federal, administrada pela CAESB (Google Earth, 2022). 19
Figura 3.11 Fluxograma esquemático adaptado da ETE Paranoá, Distrito Federal. O Afluente passa pela grade, segue para o medidor de vazão, desarenador, se divide em três reatores UASB, e de cada reator seguem para três Lagoas de Alta Taxa, por fim sendo encaminhado para o Corpo Receptor (Silva, 2007 e Nascimento, 2019). 20
Figura 3.12 Representação esquemática do Reator UASB, onde ocorre a remoção anaeróbia da matéria orgânica (Chernicharo, 2016, Vol 5, p 198). 21
Figura 3.13 Pontos de Lançamento dos Efluentes Finais das ETEs e Enquadramento dos Corpos Hídricos do DFem Classes, com adaptação para visualização do local de lançamento da ETE Paranoá e Rio Paranoá (ADASA, 2021). 23
Figura 3.14 Mapa do DF com informações do ICE que classifica corpos hídricos conforme a compatibilidade com a classe em que foram enquadrados (ADASA, 2021). 24

Figura 4.1 Fluxograma Metodológico da Pesquisa (Fonte: Autoral). 26
Figura 4.2 Efluente Final da ETE Paranoá, DF, coletado no dia 06/09/2022 e armazenado em congelador para manutenção de suas propriedades. 28
Figura 4.3 Microalga clorofícea *Monoraphidium capricornutum,* unicelular, cultivo unialgal. Imagem registrada no Microscópio Leica DM LB2, com aumento de 100 vezes. 30
Figura 4.4 Meio de cultivo aerado para manutenção da cepa de *Monoraphidium capricornutum.* 30
Figura 4.5 Filtro utilizado para filtrar o Efluente Final da ETE Paranoá a ser utilizado no ensaio. 32
Figura 4.6 Pipetas automáticas da marca Gilson, de 10 a 100 µL e de 100 a 1000 µL, utilizadas na preparação dos ensaios. 33
Figura 4.7 Microscópio Leica DM LB2, utilizado para contagens das células das amostras. 34
Figura 4.8 Lente objetiva de aumento de 10 vezes do Microscópio Leica DM LB2 e câmera de Neubauer utilizada para contagem das células, posicionada no aparelho. 34
Figura 4.9 Representação de um dos Campos da Câmara de Neubauer Melhorada (Andersen, 2005, p 246). 35
Figura 4.10 Cultivo de *Monoraphidium capricornutum,* em fase exponencial de crescimento, registrado no Microscópio Leica DM LB2 em câmara de Neubaeur. 36
Figura 4.11 Desenho esquemático das triplicatas das cinco diluições definidas para o Ensaio de Sensibilidade com Sulfato de Zinco Heptahidratado (400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, 20 mg/L e 2 mg/L) e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,29 x 10^4 células por mL. 37
Figura 4.12 Disposição do Ensaio de Sensibilidade montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 09 de dezembro de 2022 e mantido por 96 horas. 38
Figura 4.13 Desenho esquemático das cinco diluições dos 3 tratamentos definidos para o Ensaio Preliminar: Cilindrospermopsina (100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 10 µg/L e 5 µg/L), PFOA (2000 µg/L, 1000 µg/L, 500 µg/L, 200 µg/L e 100 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (50%, 25%, 5%, 1% e 0,5%) e o controle. Concentração inicial de células igual a 1,45 x 10^4 células por mL. 39

Figura 4.14 Disposição do Ensaio Preliminar montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018 dia 19 de dezembro de 2022 e mantido por 96 horas. 40

Figura 4.15 Desenho esquemático das triplicatas das duas diluições ou concentrações, para cada um dos três tratamentos definidos para o Ensaio Definitivo: Cilindropermopsina (100 µg/L e 50 µg/L), PFOA (2000 µg/L e 1000 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (65% e 25%) e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,45 x 10^4 células por mL. 41

Figura 4.16 Disposição do Ensaio Definitivo montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 06 de janeiro de 2023 e mantido por 96 horas. 41

Figura 4.17 Desenho esquemático das triplicatas dos três tratamentos definidos para o Ensaio de Mistura Binária: Cilindropermopsina [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]; Cilindropermopsina [100 µg/L] +PFOA [2000 µg/L]; Cilindropermopsina [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L] e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,58 x 10^4 células por mL. 42

Figura 4.18 Disposição do Ensaio de Mistura Binária montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 13 de janeiro de 2023 e mantido por 96 horas. 43

Figura 5.1 Resultado do Ensaio de Sensibilidade ao Sulfato de Zinco. A densidade de *Monoraphidium capricornutum* no início do ensaio era de 1,29 x 10^4 células por mL. A duração do ensaio foi de 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: 400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, 20 mg/L e 2 mg/L de $ZnSO_4.7H_2O$. As letras diferentes indicam diferença significativa, $p< 0,005$. 45

Figura 5.2 Resultado do Ensaio Preliminar. A densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* foi de 1,45 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta às concentrações: Cianotoxina - Cilindropermopsina (100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 10 µg/L e 5 µg/L), PFOA (2000 µg/L, 1000 µg/L, 500 µg/L, 200 µg/L e 100 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (50%, 25%, 5%, 1% e 0,5%). 47

Figura 5.3. Porcentagens de Inibição no Crescimento de *Monoraphidium capricornutum* quando expostas por 96 horas a (A) [100 µg/L] e [50 µg/L] de CYN, (B) [2000 µg/L] e [1000 µg/L] de PFOA e (C) [65%] e [25%] de Efluente Final da ETE

Paranoá. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p< 0,005$. 50

Figura 5.4- Resultado do Ensaio Definitivo. A densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* foi de 1,45 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: CYN (100 µg/L e 50 µg/L), PFOA (2000 µg/L e 1000 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (65% e 25%). 51

Figura 5.5 Porcentagens de Inibição no Crescimento das microalgas *Monoraphidium capricornutum* quando expostas, por 96 horas a: i) CYN [100 µg/L], PFOA [1000 µg/L]; ii) CYN [100 µg/L], PFOA [2000 µg/L]; iii) CYN [50 µg/L], PFOA [2000 µg/L]. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p< 0,005$. 54

Figura 5.6 Resultado do Ensaio de Mistura Binária, a densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* era de 1,58 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: CYN [100 µg/L], PFOA [1000 µg/L]; CYN [100 µg/L], PFOA [2000 µg/L]; CYN [50 µg/L], PFOA [2000 µg/L]. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p< 0,005$. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Tabela de registro de contagem do número de células da amostra (Amostra do cultivo de *Monoraphidium capricornutum*, do dia 09/12/2022). 35

Tabela 5.1 Resultados das análises estatísticas no GraphPad Prism 8 do Ensaio de Sensibilidade. 46

Tabela 5.2 Resultados Obtidos no Ensaio Definitivo realizado no dia 06 de janeiro de 2023. 49

Tabela 5.3 Resultados das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8 do Ensaio Definitivo. 51

Tabela 5.4 Parâmetros medidos in loco em laboratório da amostra coletada do Efluente da ETE Paranoá, no dia 06 de setembro de 2022. 52

Tabela 5.5. Dados de Novembro de 2022 das Estações de Monitoramento de Qualidade da Água, ETE Paranoá Montante e Jusante, de reponsabilidade da ADASA. 53

Tabela 5.6 Resultados Obtidos no Ensaio de Mistura Binária realizado no dia 13 de janeiro de 2023. 53

Tabela 5.7 Resultados das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8 do Ensaio de Mistura Binária. 55

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 4-1. Equação para o cálculo do Número de Células presente na amostra (cels/mL). 36

Equação 5-1. Cálculo da Concentração de Inibição (NBR 12.648 de 2018)**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE ABREVIAÇÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas

ADASA Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico do Distrito Federal

ANA Agência Nacional de Águas

C Carbono

CAESB Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal

CEB Companhia Energética de Brasília

CETESB Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CODEPLAN Companhia de Planejamento do Distrito Federal

CONAMA Conselho Nacional do Meio Ambiente

COP Conferência das Partes da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre as Alterações Climáticas

CYN Cilindrospermopsina

DBO Demanda Bioquímica de Oxigênio

DF Distrito Federal

DQO Demanda Química de Oxigênio

EF Efluente Final

EPA United States Environmental Protection Agency

ETA Estação de Tratamento de Água

ETE Estação de Tratamento de Esgoto

F Flúor

LAT Lagoa de Alta Taxa

IBRAM Instituto Brasília Ambiental

IET Índice de Estado Trófico

ICE Índice de Conformidade ao Enquadramento

INMET Instituto Nacional de Meteorologia

MC Microcistina

mL Mililitro

µL Microlitro

nL Nanolitro

N Nitrogênio

Nod Nodularinas

OD Oxigênio Dissolvido

ODS Objetivos do Desenvolvimento Sustentável

OMS Organização Mundial da Saúde

ONU Organização das Nações Unidas

P Fósforo

PFAS Polifluoroalquilados

PFOA Ácidos Perfluorooctanóicos

PNUMA Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente

PH Potencial Hidrogeniônico

PNRH Política Nacional de Recursos Hídricos

RAFA/ UASB Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente

SNIS Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento

STX Saxitoxina

UNICEF Fundo das Nações Unidas para a Infância

1. INTRODUÇÃO

A alta demanda pelos recursos hídricos, a escassez destes, as ações antrópicas, o crescimento da população humana, a acelerada urbanização, a agricultura, a industrialização, as alterações do clima e a poluição hídrica podem levar a conflitos e restrições ao uso da água, como também à eutrofização artificial (Tundisi, 2003). De acordo com relatório de 2017, da Organização Mundial da Saúde e do Fundo das Nações Unidas para a Infância, 2,2 bilhões de pessoas no mundo não têm acesso a água potável (OMS, 2017). E em relação ao saneamento básico, conforme informação de 2019 do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, 4,2 bilhões de indivíduos não têm acesso a saneamento de qualidade, dessa forma, conservar a água nunca foi tão urgente (PNUMA, 2019).

Os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) foram definidos na Conferência das Partes da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre as Alterações Climáticas, COP 21, que ocorreu em Paris, em 2015, e são um apelo à ação governamental para acabar com a pobreza e proteger o meio ambiente. O objetivo número 6 (ODS 6) é assegurar a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos e este é um dos principais problemas do Século XXI. De acordo com a ONU, Segurança Hídrica existe quando há disponibilidade de água em quantidade e qualidade suficientes para o atendimento às necessidades humanas, atividades econômicas e conservação dos ecossistemas aquáticos.

No Brasil, o valor da água é reforçado pela Lei Federal nº 9.433 de 1997, a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH), que institui os instrumentos, órgãos e colegiados necessários para a gestão do recurso. O Brasil é um país privilegiado por ter grandes reservas hídricas, não abriga nem 3% da população mundial, mas possui 14% da água doce disponível no planeta e 18% se considerar apenas as águas superficiais, excluindo aquíferos subterrâneos e lençóis freáticos. No entanto, a disponibilidade desse recurso e a ocupação populacional são desiguais no território nacional, o que contribui para um déficit hídrico em várias regiões (Borghetti, 2004).

O tratamento ineficaz de efluentes e a poluição dos mananciais alteram o ecossistema aquático e causam a diminuição da disponibilidade de recursos, principalmente em áreas contendo os grandes aglomerados populacionais. Neste contexto, é indispensável o

tratamento das águas residuárias, além do estudo e monitoramento da qualidade e da quantidade dos recursos hídricos das bacias hidrográficas do país (Souza, 2014). Ademais, de acordo com relatório de 2023, do World Economic Forum, seis entre os dez riscos globais mais graves para os próximos dez anos são relacionados ao meio ambiente, como mudanças climáticas, falta de recursos naturais, acidentes ambientais, perda de biodiversidade e colapso dos ecossistemas (WEF, 2023).

Parte dessa conjuntura vem ocorrendo há muitos anos, razão pela qual a gestão ambiental brasileira vem se estruturando de maneira mais intensa desde 1981. Em 2005 e 2011 as importantes Resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 357 e 430, foram aprovadas. Estas dispõem sobre a classificação e o enquadramento dos corpos de água, estabelecem as condições de lançamento de efluentes e a importância dos indicadores bióticos. Observa-se que o aporte de nutrientes limitantes, como nitrogênio (N) e fósforo (P), aos corpos hídricos pelo despejo de esgotos, gera eutrofização artificial. Na ocorrência desse processo, as cianobactérias, importante grupo do fitoplâncton, são beneficiadas e podem se multiplicar intensamente, causando um desequilíbrio na microbiota aquática (Miwa, 2007).

Além disso, as cianobactérias são capazes de produzir metabólitos secundários denominados cianotoxinas. O Brasil, por ser um país com elevado potencial hidroelétrico, conta com muitos reservatórios que são utilizados para múltiplos usos. Uma parte para o abastecimento humano. Porém, parte destes reservatórios estão eutrofizados, com proliferação de cianobactérias e contaminação dos recursos hídricos por cianotoxinas (Sisinni, 2013). Essas toxinas desestabelecem o equilíbrio da biota aquática. O fitoplâncton, a base da cadeia alimentar, pode ser a primeira comunidade afetada, e então todos os demais níveis tróficos sofrem os imapctos (Ferrão-Filho, 2011).

Ademais, existem outros agentes químicos e biológicos (contaminantes e patógenos) que persistem ao tratamento das águas residuárias urbanas e coocorrem nos efluentes finais das Estação de Tratamento de Esgoto (ETEs). O estudo destes compostos pode contribuir para definição de valores de referência e formulação das legislações em proteção da saúde ambiental e humana (Metcalf, 2020). Um exemplo são os Polifluoroalquilados (PFAs), substâncias sintéticas, persistentes, amplamente utilizadas atualmente em diversas áreas e indústrias, que apresentam impactos adversos à saúde humana (Gagliano, 2019). Dessa

forma, é essencial a análise, por exemplo, dos efeitos combinados entre cianotoxinas e PFAs.

No presente trabalho, foram estudados os efeitos do efluente final da ETE Paranoá (localizada no Distrito Federal, a jusante da barragem do Lago Paranoá), da cianotoxina, cilindrospermopsina, e de PFOA, no crescimento da espécie-teste, as microalgas *Monoraphidium capricornutum*. Conforme informações fornecidas pela CAESB, a ETE Paranoá opera realizando o tratamento biológico de efluentes, por Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UASB) seguido de Lagoas de Alta Taxa e o corpo receptor do efluente tratado é o Rio Paranoá, que conflui para o Rio São Bartolomeu.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos tóxicos específicos e da mistura binária de cianotoxina cilindrospermopsina (CYN) e polifluoroalquilados do tipo PFOA, assim como os efeitos do efluente final das lagoas de estabilização da ETE Paranoá, na microalga *Monoraphidium capricornutum*, através de ensaios de toxicidade crônicos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os efeitos de diferentes diluições do efluente final da lagoa de estabilização da ETE Paranoá, do Distrito Federal, no crescimento de *Monoraphidium capricornutum*.
- Avaliar os efeitos de diferentes concentrações de extrato tóxico contendo cilindrospermopsina no crescimento de *Monoraphidium capricornutum*.
- Avaliar os efeitos de diferentes concentrações de PFOA no crescimento de *Monoraphidium capricornutum*.
- Avaliar os efeitos de diferentes concentrações de mistura binária de extrato de CYN e PFOA no crescimento de *Monoraphidium capricornutum*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. ASPECTOS LIMNOLÓGICOS

Os recursos hídricos são fundamentais para a manutenção da vida no planeta. De acordo com a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH), Lei Federal nº 9.433 de 1997, a água é um bem de domínio público, um recurso natural limitado, dotado de valor econômico. Dessa forma, é um recurso estratégico. Onde existe água, o desenvolvimento e a geração de riquezas são acelerados (Tundisi, 2003). A Lei mencionada reforça a importância dos usos múltiplos, define o objetivo de assegurar à atual e às futuras gerações água em quantidade e qualidade adequados, além da utilização racional e integrada dos recursos hídricos.

A Bacia Hidrográfica é a unidade territorial para implementação da PNRH, é um perímetro composto por superfícies vertentes e uma rede de drenagem formada por cursos d'água que confluem para um único ponto, o exutório (Tucci, 1997). De acordo com a ADASA, o DF possui uma área de 5.800 km² em que estão presentes sete bacias hidrográficas. As bacias dos rios Paranoá, Corumbá, Descoberto, São Bartolomeu e São Marcos, afluentes da bacia do rio Paraná, e as bacias dos rios Maranhão e Preto, fazem parte das regiões hidrográficas do Tocantins-Araguaia e São Francisco, respectivamente. Dessa forma, o DF é um divisor natural de três grandes regiões hidrográficas brasileiras (ADASA, 2016). No presente estudo, a ênfase será na Bacia Hidrográfica do Rio Paranoá, registrada na Figura 3.1.

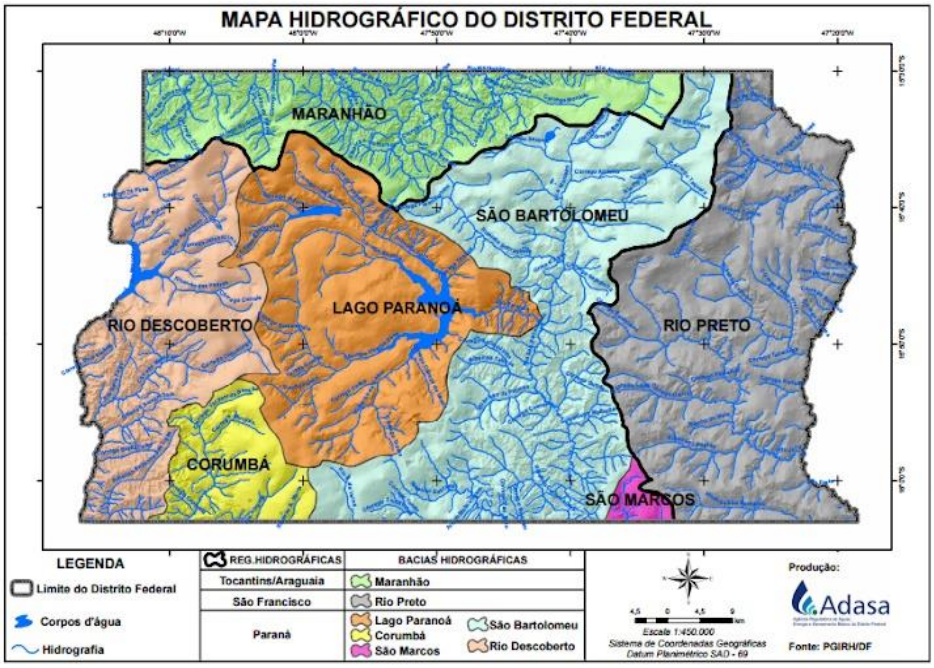


Figura 3.1 Mapa com as Bacias Hidrográficas do Distrito Federal (ADASA, 2011).

No entanto, a ocupação humana nas bacias hidrográficas que apresentam mananciais de abastecimento tem alterado a dinâmica dos recursos hídricos. Conforme mencionado, a urbanização, a drenagem urbana, a agricultura, as pastagens e a industrialização, sem o devido planejamento, comprometem os serviços ambientais fornecidos pelas bacias hidrográficas. Além disso, os lançamentos de esgotos sanitários em reservatórios de água doce podem causar prejuízos a qualidade desejada dos recursos hídricos, ambiental e sanitária (Veról, 2007). A Figura 3.2 exemplifica esta situação.



Figura 3.2 Relação entre uso e ocupação do solo e focos alteradores da qualidade da água em bacias hidrográficas (Von Sperling, 2014, Vol 1, p 14).

O Plano de Recursos Hídricos das Bacias Hidrográficas dos afluentes Distritais do Rio Paranaíba apresenta um diagnóstico atualizado e o prognóstico dos principais problemas que afetam a qualidade da água no DF (Engeplus, 2019). Dessa forma, é muito importante para enfrentar as questões que impactam na qualidade da água. O cenário de escassez hídrica já é uma preocupação no Brasil, pois as ações antrópicas estão causando a redução das fontes de captação superficial. Em Brasília, em 2016 ocorreu uma crise hídrica, a qual foi ocasionada por fatores ambientais, e pelo crescimento da população sem o ajuste das infraestruturas sanitárias necessárias (ADASA, 2017). Os corpos hídricos são sistemas complexos e o gerenciamento destes deve ser pautado na preservação das fontes de abastecimento e reservas naturais de recursos hídricos (Tundisi, 2001).

Limnologia é o estudo dos sistemas e das comunidades bióticas aquáticas continentais. A qualidade da água dos ambientes lênticos e lóticos é muito importante para garantia dos usos múltiplos da água e manutenção da vida. Para o controle do ecossistema aquático, deve ser realizado o monitoramento integrado das bacias hidrográficas afluentes. É interessante analisar os parâmetros bióticos de qualidade da água, variáveis climatológicas e químicas e abióticos, quantitativo do fitoplâncton e do zooplâncton (Souza, 2014).

3.1.1. Corpos Lênticos e Lóticos

De acordo com a Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico, os corpos hídricos são muito importantes, pois são utilizados para suprir as necessidades hídricas, fisiológicas, domésticas, industriais, agrícolas, produção de energia, transporte, preservação do equilíbrio natural das comunidades aquáticas, recreação, pesca, navegação, paisagismo, diluição e depuração de efluentes (ANA, 2019). Os corpos lênticos são os ecossistemas aquáticos de água doce parada, com maior tempo de residência e acúmulo de nutrientes, como lagos, lagoas e reservatórios (Esteves, 2011). Conforme a Resolução do CONAMA nº 357 de 2005, as águas doces são aquelas que possuem salinidade menor que 0,05%.

Os corpos lóticos, são os ecossistemas aquáticos de água doce em movimento de montante a jusante, análogos a esteiras, que carregam sedimentos, poluentes e materiais que forem aportados na bacia hidrográfica, como os rios, riachos e córregos, ecossistemas fluviais. Possuem gradiente horizontal e fluxo unidirecional, desse modo, a composição química da água, a temperatura, a intensidade de radiação e as concentrações de oxigênio dissolvido variam horizontalmente. Além disso, dependendo das suas dimensões, podem atravessar vários biomas, possuem uma diversidade biótica, a biomassa microbiana e a matéria orgânica dissolvidas aumentam ao longo do curso do rio (Biggs, 2005).

3.1.1.1. Dinâmica dos Nutrientes em Corpos Hídricos

A maior parte da circulação de elementos químicos ocorre em meio aquoso, em especial nas camadas inferiores da água, onde os nutrientes são regenerados. Na coluna d'água existe maior taxa de transferência de nutrientes pelas membranas celulares e produtividade primária, devido a capacidade de absorção e transformação da matéria nos processos de fotossíntese e respiração. A mistura vertical da coluna d'água, comumente causada pelo vento, afeta a produtividade, pois transporta os nutrientes do fundo para as camadas superficiais, colaborando com a produtividade primária do fitoplâncton.

Porém, nos ambientes mais profundos continentais tropicais, com variação vertical na distribuição luminosa e devido ao elevado calor específico da água, o maior aquecimento pela luz do sol nas camadas superficiais pode causar estratificação térmica e química. E isso contribui para menor concentração de nutrientes na camada superior do corpo hídrico estratificado. Essa dinâmica hidrológica varia sazonalmente e seleciona as comunidades mais adaptadas a cada período (Ricklefs, 2003).

3.1.1.2. Comunidade Fitoplanctônica

O fitoplâncton é um grupo polifilético, sem um único ancestral comum, formado pelos microrganismos fotoautotróficos, que flutuam na água, como as microalgas e as cianobactérias. Esses organismos realizam fotossíntese, produzem energia pela assimilação de luz solar e carbono da atmosfera, ou seja, possuem papel central, são produtores primários e a base da cadeia alimentar (Dias, 2011). As microalgas, pertencentes ao grupo dos Protistas, são organismos que apresentam clorofila-a como pigmento fotossintético primário, composição de carboidratos de reserva e proteínas semelhante às plantas. São predominantemente aquáticas e unicelulares. Junto com as cianobactérias, são responsáveis por aproximadamente 60% da produtividade primária na Terra (Wojciewchowski, 2013).

Estima-se que existam cerca de quatro mil espécies de fitoplâncton em corpos de água continentais (Reynolds, 2006). Um dos parâmetros bióticos necessários para avaliação da integridade ecológica do ecossistema lacustre é a análise qualitativa, quantitativa e da dinâmica do fitoplâncton, pois por ser a base da teia trófica, a composição dessa comunidade afeta diretamente o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Finlay, 2002).

3.2. IMPACTOS AMBIENTAIS NOS AMBIENTES AQUÁTICOS

3.2.1. Eutrofização Artificial

São diversos os impactos ambientais que os ecossistemas aquáticos sofrem, tais como: remoção de matas ciliares, entrada de sedimentos erosivos, excesso de retirada de água para irrigação, mudança do curso d'água, lentificação (construção de barragens), poluição etc. Um dos mais significativos é o excessivo aporte de nutrientes, principalmente N e P, ao corpo d'água, o que pode levar ao aumento da produtividade nos compartimentos aquáticos e crescimento intenso de plantas aquáticas, assim como as algas e cianobactérias, causando um fenômeno conhecido como eutrofização artificial. Tal fenômeno pode ocorrer

devido ao lançamento de esgotos sem tratamento ou de efluentes de ETEs com parcela remanescente de nutrientes nos corpos hídricos (Miwa, 2007).

Este processo ocorre naturalmente de forma lenta, pelo aporte da chuva e escoamento superficial de áreas erodidas, causando o envelhecimento natural do corpo hídrico. Entretanto, transcorre de maneira antrópica ou artificial na atualidade, especialmente pela disposição de esgoto doméstico em corpos d'água, causando o envelhecimento precoce do ecossistema lacustre, é uma forma de poluição (Esteves, 2011). No Brasil e nos países em desenvolvimento, parte do esgoto bruto é lançado sem tratamento prévio nos cursos d'água, gerando preocupação crescente com alto grau de poluição em que se encontram os rios e ambientes de água doce (Tundisi, 2003).

O indicador Índice do Estado Trófico (IET) classifica corpos lênticos em graus de trofia, avalia a qualidade da água quanto ao enriquecimento por nutrientes. Em: Ultraoligotrófico com produtividade muito baixa e concentrações insignificantes de nutrientes; Oligotrófico com baixa produtividade e sem interferências indesejáveis sobre os usos da água; Mesotrófico com produtividade intermediária e possíveis implicações sobre a qualidade da água; Eutrófico com produtividade alta, redução da transparência, devido a atividades antrópicas, que causam aumento da concentração de nutrientes, a qualidade da água é alterada, causando interferências nos usos múltiplos (ANA, 2013). No DF já existem locais mesotróficos e eutróficos, ou seja, afetados pelo aporte de nutrientes, conforme mapa da Figura 3.3.

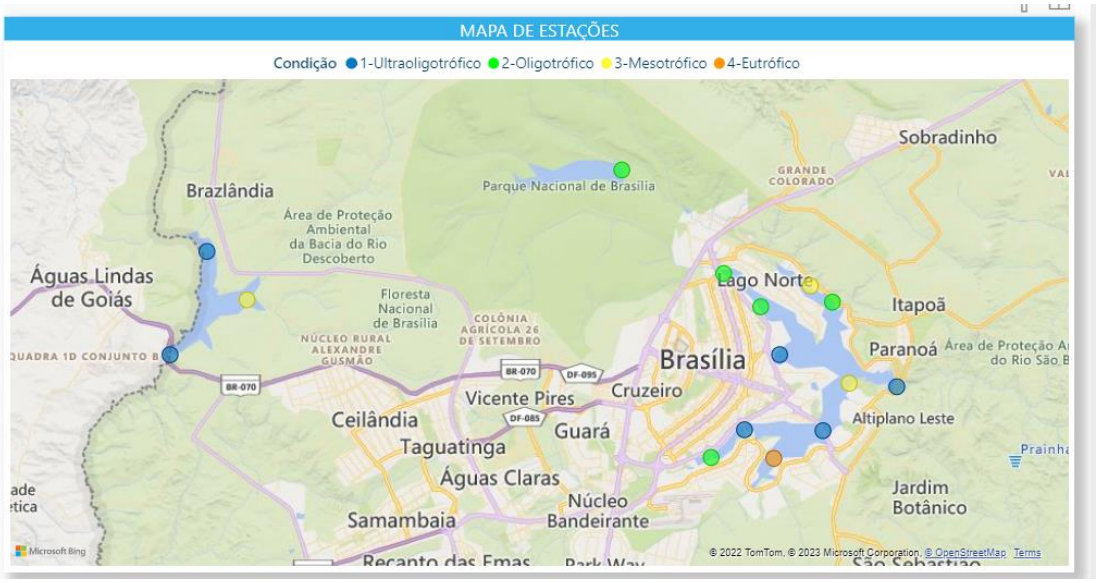


Figura 3.3. Mapa do DF ampliado com informações do IET classifica corpos lênticos em graus de trofia em ultraoligotrófico, oligotrófico, mesotrófico e eutrófico (ADASA, 2022).

3.2.2. Cianobactérias

As cianobactérias são um grupo componente do fitoplâncton, presente em quase todos os ecossistemas do planeta. São microrganismos do domínio Bactéria, procariontes, ou seja, não possuem núcleo individualizado. Em sua maioria, são autotróficas e produtoras primárias, realizam fotossíntese, porém podem ser mixotróficas assimiladoras de compostos orgânicos, o que as permite viver em regiões profundas e sem luz. Podem ser unicelulares, filamentosas e coloniais, apresentam clorofila-a e alguns pigmentos acessórios específicos (Azevedo, 1998). A Figura 3.4 representa uma célula de cianobactéria.

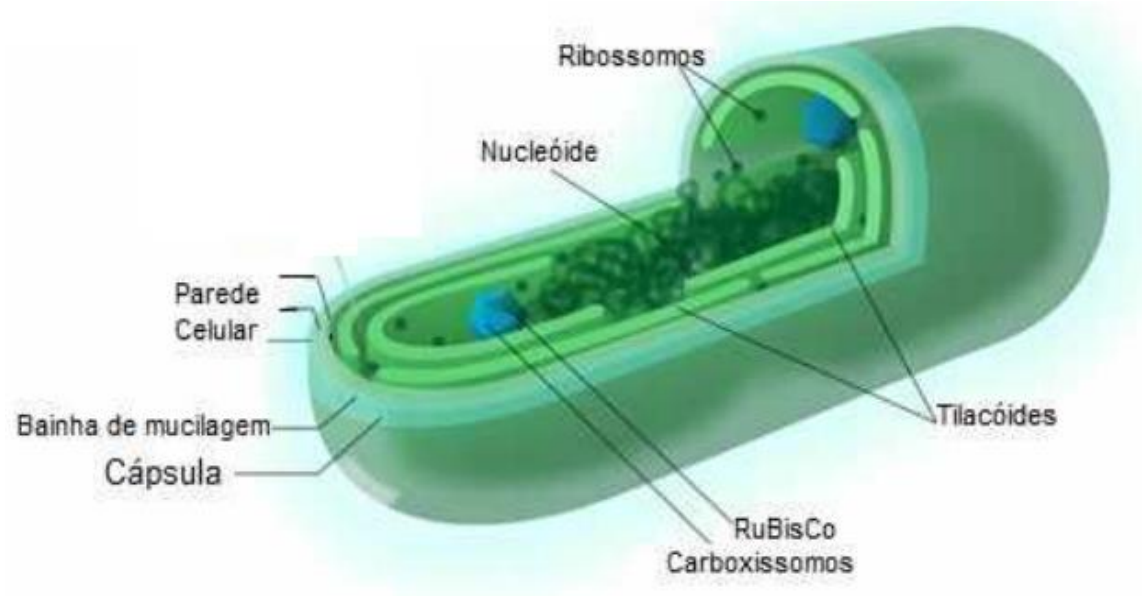


Figura 3.4 Célula de Cianobactérias, com representação dos ribossomos, nucleóide, parede celular, cápsula, entre outras estruturas celulares (Ducat, 2011 adaptado).

As cianobactérias são muito importantes na fixação biológica de nitrogênio em lagos, pois alguns gêneros são capazes de utilizar o N molecular como fonte de N para o seu metabolismo. Tal característica representa uma enorme capacidade adaptativa em ecossistemas com baixa disponibilidade de outras formas de N orgânico (Esteves, 2011). As cianobactérias fixadoras de N atmosférico têm uma vantagem competitiva sobre o fitoplâncton, em ambientes de N limitado e P abundante, pois, quando ocorre eutrofização a razão N:P pode ser insuficiente para o microrganismo, então fixam N atmosférico, suprindo essa deficiência e crescem mais (Huisman, 2018).

As cianobactérias precisam suprir suas necessidades de luz e nutrientes para produção de energia e reprodução, porém, elas competem por estes recursos com o restante do

fitoplâncton. Nesse contexto, observa-se que as cianobactérias possuem características que favorecem o seu domínio sobre as algas em algumas circunstâncias. Alguns exemplos: elas produzem metabólitos secundários que podem inibir a herbivoria do zooplâncton, conseguem assimilar bem diferentes comprimentos de onda de radiação, o que garante o máximo de produtividade. Possuem vacúolos gasosos que alteram gases no interior da célula, permitindo que elas flutuem no ambiente aquático e mudem de posição na coluna d'água. Desse modo, são capazes de afundar para absorver os nutrientes e subir para realizar fotossíntese que necessita da luz presente na superfície (WHO, 2021).

A diversidade genética das cianobactérias permite uma rápida adaptação ao aumento das concentrações de CO_2 atmosférico e aumento de temperatura global. Como tal aumento é uma tendencia no Planeta Terra, espera-se cada vez mais florações de cianobactérias nos ambientes aquáticos (Huisman, 2018). Por fim, as cianobactérias conseguem crescer durante a escassez de nutrientes dissolvidos, pois podem armazená-los, particularmente P e, em menor escala, também N em quantidades suficientes para divisão e crescimento celular (Li & Dittrich, 2019).

3.2.3. Consequências no Ecossistema e Cianotoxinas

Devido ao aporte de nutrientes no corpo hídrico, podem ocorrer as florações de cianobactérias, algumas espécies produzem cianotoxinas perigosas aos outros organismos vivos. As cianotoxinas são uma das substâncias mais tóxicas que existem naturalmente, estão presentes em todo o mundo, em lagos e reservatórios utilizados como mananciais de abastecimento ou para recreação. Então, o contato com elas torna-se inevitável. Entretanto, as florações de cianobactérias tóxicas não são vistas pela população em geral como um perigo de saúde pública e ecológica como um derramamento de uma toxina industrial ou química, com o mesmo potencial tóxico, apenas por serem “naturais”. O controle delas é complexo, requer esforços além do tratamento de água, como a gestão das bacias hidrográficas inteiras e investimentos políticos a longo prazo (WHO, 2021).

As cianobactérias estão presentes nos ecossistemas há cerca de 3 bilhões de anos e a produção de cianotoxinas é igualmente antiga (Wilmotte, 1994). As florações de cianobactérias alteram a qualidade da água, devido à produção de cianotoxinas e outros metabólitos que podem causar, também, odor e sabor desagradáveis à água (Sant'anna, 2007). Existem diversos gêneros de cianobactérias capazes de produzir cianotoxinas como: *Microcystis*, *Raphidiopsis*, *Nodularia*, entre outros. Comumente, são liberadas apenas com

o rompimento da célula, mas existem as que são ativamente excretadas (Buratti, 2017). São classificadas conforme seus efeitos nos animais e sua toxicidade, como hepatotoxinas, neurotoxinas, dermatotoxinas e citotoxinas (Panosso, 2007).

Ainda faltam dados para estimar a carga e o dano total da exposição às toxinas das cianobactérias na água aos seres humanos, pois apenas um pequeno número de casos registrados de intoxicação humana aguda são atribuídos a elas, e seus sintomas muitas vezes são confundidos com os de outros contaminantes (Wood, 2016). No entanto, o Brasil teve o principal incidente de intoxicação humana por cianotoxina já registrado. Em 1996 em Caruaru, em Pernambuco, a água utilizada para hemodiálise estava contaminada com cianotoxinas e isso levou à morte de quase 60 pacientes renais crônicos (Azevedo, 1998).

Os principais tipos de cianotoxinas produzidas por diferentes espécies de cianobactérias são as hepatotoxinas: microcistinas (MC), cilindrospermopsina (CYN), nodularinas (Nod), e as neurotoxinas: saxitoxinas (STX) e anatoxina-a (ATXs). Quanto aos mecanismos de ação em animais vertebrados, as hepatotoxinas causam danos nos rins e fígado, algumas são potencialmente cancerígenas (CYN) ou promotoras de tumor (MC e Nod), e têm ação mais lenta, podendo causar morte num intervalo de horas a dias. Já as neurotoxinas bloqueiam a comunicação entre os neurônios, a transmissão dos impulsos nervosos e podem causar a morte rápida por paralisia respiratória (Neiva, 2013).

As cilindrospermopsina são alcaloides cíclicos, conforme o ilustrado na Figura 3.5, com anéis heterocíclicos (WHO, 2021), são comumente encontradas em florações nos lagos de regiões tropicais e subtropicais, que apresentam luz e temperatura aproximadamente constantes o ano inteiro. Podem afetar mais órgãos, como pulmão e coração, inibir a síntese de proteínas e causar problemas endócrinos (Schneegurt, 1997).

Este metabolito tóxico é preocupante devido a sua capacidade de bioacumulação e toxicidade para muitos organismos, é a segunda cianotoxina mais comum, registrada em todo o mundo. Existem casos de mortalidade humana e animal associados a ingestão de água contaminada com elas, portanto representa um grande desafio para as Estações de Tratamento de Água (ETAs) e para saúde pública (Yang, 2021).

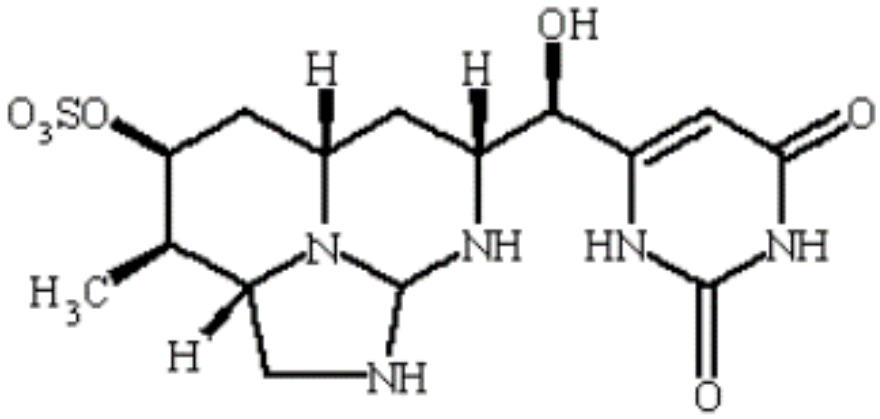


Figura 3.5 Estrutura molecular da cilindrospermopsina (Fonte: Schneegurt, 1997).

Já foram encontrados registros de corpos d'água com concentrações altas de cilindrospermopsina, na faixa de 100µg/L, na Europa, na Oceania, na América do Norte e na América do Sul, relacionadas a grandes florações de cianobactérias (Figura 3.6) (Yang, 2021). No entanto, o valor de cilindrospermopsina considerado seguro nos corpos d'água é de 1 µg/L (Humpage, 2003).

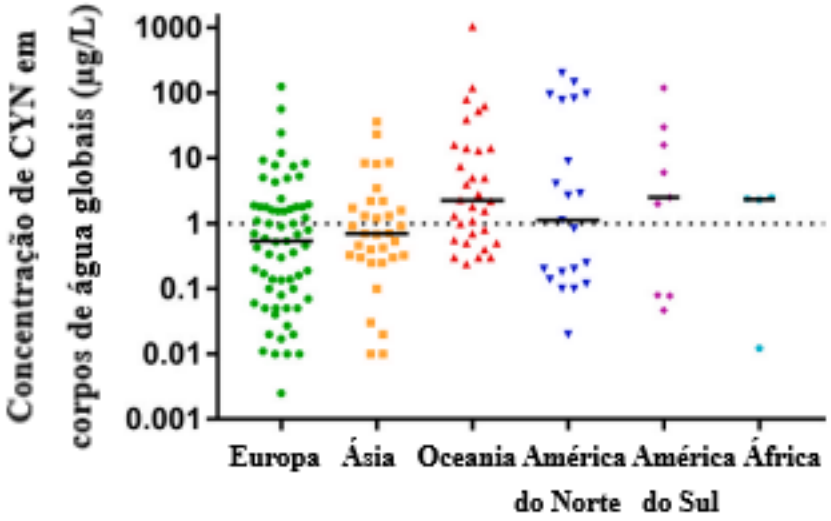


Figura 3.6 Concentração de CYN em corpos de água globais (µg/L). As linhas pontilhadas e sólidas representam o valor de segurança e o valor médio encontrado, respectivamente (Yang, 2021, adaptado).

Além disso, o Estado tem o dever de garantir água potável e segura à toda população. Nesse contexto, a Portaria do Ministério da Saúde nº 888 de 2020, define os padrões para o tratamento de água e as cianobactérias são um dos critérios a se monitorar. Está previsto que em manancial de abastecimento humano, se detectadas concentrações superiores a

10.000 células por mililitro, deve-se analisar mensalmente a água e acima de 20.000 células por mililitro, semanalmente. Na água tratada, também se analisam as toxinas, para as quais existe um valor máximo permitido (VMP) para MC, CYN e STX.

3.2.4. Polifluoroalquilados (PFAs)

Dentre os contaminantes emergentes presentes na água, os Per ou Polifluoroalquilados (PFAs) geram grande preocupação. De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos estados Unidos (EPA), são substâncias sintéticas, formadas de carbono (C) e flúor (F), perigosas devido à sua alta persistência, baixa degradabilidade e toxicidade, causam danos ao fígado, rins e sistema imunológico. Existe forte ligação entre os átomos presentes na estrutura química e resistência oxidativa. De acordo com a CETESB, são substâncias organofluoradas de cadeia longa, moléculas estáveis, com átomos de flúor ligados a grupos como o carboxílico (PFOA), sulfônico (PFOS) e sulfonila (PFOS-F). Repelem tanto água, como gordura.

Os ácidos perfluorooctanóicos (PFOA), ilustrado na Figura 3.7, também conhecido como C8, apresentam difícil remoção, a microbiota degrada-os lentamente e são facilmente transportados no ambiente. São compostos utilizados em diversos produtos e atividades industriais mundiais, como surfactantes, pesticidas, espuma de combate a incêndio, revestimentos, tintas, produtos eletrônicos, impermeabilizantes, ceras, teflon das panelas, embalagens, entre outros (Silva, 2021). São amplamente detectados nos rios, água potável e águas residuais, em concentrações na faixa de ng/L a μg/L, devido à sua forte resistência à biodegradação (Hu, 2020).

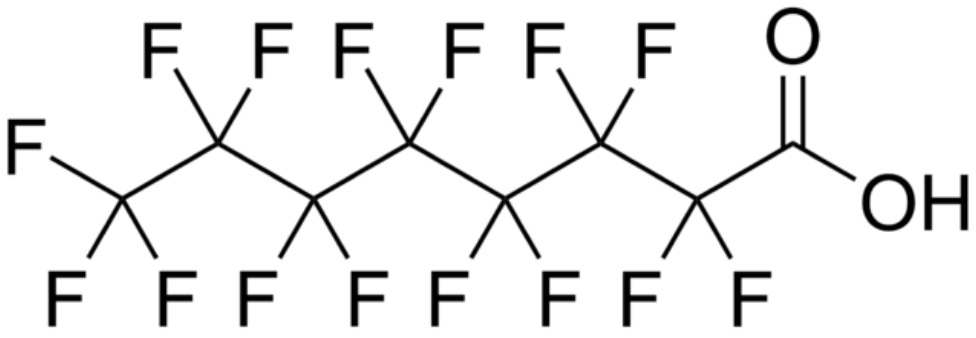


Figura 3.7 Estrutura molecular do PFOA.

A presença de PFOA no efluente final do tratamento de esgoto causa efeitos adversos na biota lacustre. Nos ecossistemas aquáticos do Brasil, essas substâncias são encontradas em diversos organismos, em toda cadeia alimentar, devido a capacidade de bioacumulação do

composto. Dessa forma, os seres humanos podem entrar em contato com os PFOA, pelo consumo dos organismos aquáticos (Miranda, 2021). Esta substância já foi detectada em amostras do Lago Paranoá e efluentes da ETE Brasília Norte, que opera com o sistema de Lodos Ativados seguida de polimento final (Lorz, 2014).

O sistema de Lodos Ativados é utilizado em locais que necessitam elevada qualidade do efluente e possuem reduzida área. Este sistema tem maior índice de mecanização, sofisticação e consumo de energia. A etapa Biológica é composta do reator, tanque de aeração, tanque de decantação, decantador secundário e recirculação de lodo (Von Sperling, 2018).

3.2.5. Efeitos nas microalgas da exposição a Cilindrospermopsina e PFOA

Pinheiro et al. (2013), expuseram diversas espécies de microalgas a CYN e verificaram que na concentração altíssima de 2,5 mg/L após 4 dias de exposição, houve uma inibição da taxa de crescimento de quase 100% em todas as espécies. Entretanto, Campos et al. (2013), também observaram uma redução no crescimento de microalgas, após sete dias de exposição, a um extrato contendo uma concentração bem mais baixa, 32 µg CYN/L. Além disso, estudos mostram que ácidos perfluorooctanóicos (PFOA) em concentrações inferiores a 1,0 mg/L não causam efeitos significativos no crescimento das algas (Hu, 2020).

3.3. TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS URBANAS

A Lei Federal do Saneamento Básico, nº 11.445 de 2007, define os quatro componentes do setor, que devem ser planejados de maneira integrada: abastecimento de água, esgotamento sanitário, manejo de resíduos sólidos e drenagem das águas pluviais urbanas. A PNRH estabelece o enquadramento dos corpos de água em classes, segundo os usos preponderantes e as Resoluções CONAMA nº 357 de 2005 e 430 de 2011, especificam o enquadramento, bem como estabelecem as condições e padrões de lançamento de efluentes.

A qualidade do efluente tratado depende do uso pretendido para o corpo receptor, porém nem sempre o uso pretendido é o que realmente ocorre. No DF, diversos corpos hídricos são utilizados pela população próxima para recreação. Balneabilidade é a capacidade que corpo hídrico tem de possibilitar o banho e atividades esportivas, ou seja, é a qualidade das águas destinadas à recreação de contato primário. Tal característica deve ser garantida para

que a saúde da população não seja afetada por tais atividades, mas nem sempre é (Soares, 2009).

O tratamento de esgoto é uma medida de saneamento básico e saúde pública que visa a purificação da água residuária, antes da disposição desta nos corpos receptores. O esgoto lançado nos lagos que podem ser utilizados como fonte de abastecimento são uma grande fonte de eutrofização e poluição (Bicudo, 2010). A falta de saneamento ambiental adequado é uma das principais causas da contaminação das águas para o abastecimento humano e recreação. Faz-se necessário ressaltar que a coleta e o tratamento de esgoto ainda não são uma realidade em todo território brasileiro e muito ainda deve ser feito para o alcance da situação ideal (Paiva, 2018).

De acordo com o Painel de Informações sobre Saneamento, do Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento (SNIS), registrado na Figura 3.8, em amostra que abrange 95,1% da população Brasileira, realizada em 2021, apenas 51,2% do esgoto gerado no Brasil foi tratado e apenas 55,8% da população é atendida por redes de esgotamento sanitário. Em contrapartida, de acordo com o SNIS, o índice de atendimento urbano com redes de esgoto no DF é de 90%, ou seja, dos esgotos gerados 90% são tratados. Além disso, 100% do efluente coletado vai para as ETEs. A CAESB é responsável pelo tratamento de esgoto no DF.

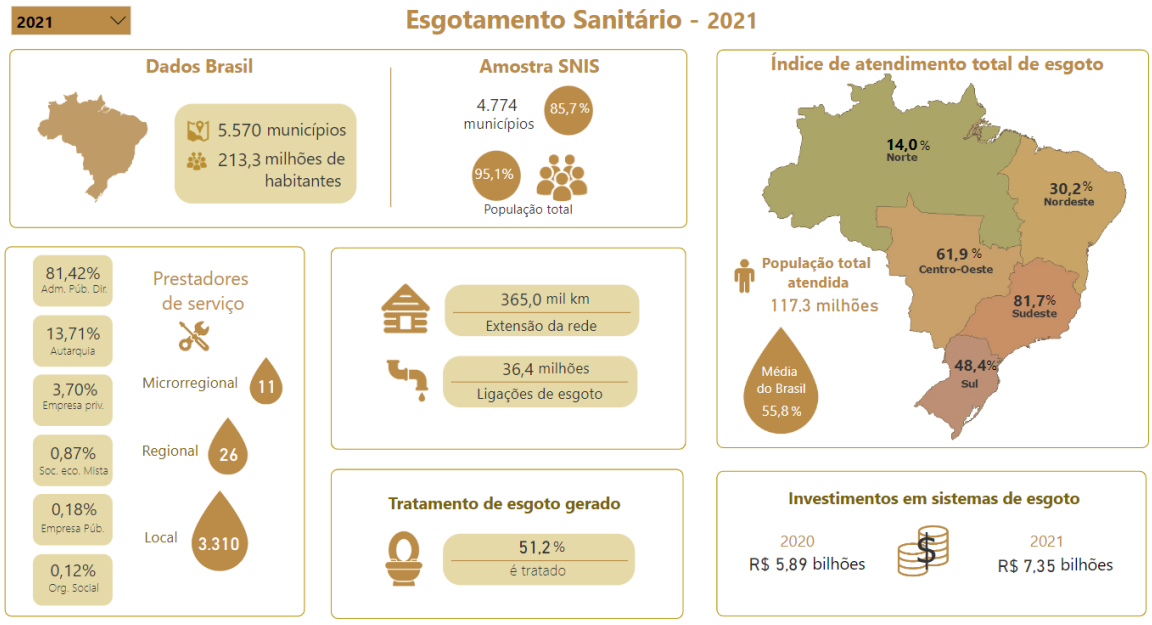


Figura 3.8 Informações de Esgotamento Sanitário Brasil (SNIS, 2021).

O tratamento de esgotos domésticos é dividido em quatro etapas principais. O tratamento inicia-se no nível Preliminar, composto pelas grades e caixas de areia, responsáveis pela remoção de sólidos em suspensão grosseiros e pela separação de óleo. Na sequência, ocorre o Tratamento Primário, no qual as bactérias aeróbias removem a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) em suspensão e os sólidos sedimentáveis, pelos processos de sedimentação, flotação e coagulação. No Tratamento Secundário ocorre a remoção biológica da matéria orgânica e degradação de compostos carbonáceos, nos filtros biológicos. E, por fim, o Tratamento Terciário ou Polimento Final é a etapa onde são removidos nutrientes e sólidos não biodegradáveis, por coagulação, filtração ou absorção em carvão ativado. (Von Sperling, 2014 e Pessoa, 2017).

3.3.1. Lagoas de Estabilização

As lagoas de estabilização são as formas mais simples para o tratamento de esgotos, a nível secundário, de águas residuárias urbanas, indicadas para regiões de clima quente, com grandes áreas disponíveis, como no Brasil. O principal objetivo dessa forma de tratamento é a remoção de matéria orgânica, a operação é simples e são necessários poucos equipamentos. Existem diversas variantes do processo. As lagoas podem ser: facultativas, sistema de lagoas anaeróbias seguidas de facultativas, conhecido como sistema australiano, lagoas aeradas facultativas e lagoas aeradas de mistura completa seguidas de lagoas de decantação. As vezes são seguidas de lagoas de maturação, com o objetivo de remover os patógenos e complementar o tratamento (Von Sperling, 2019).

Nessa modalidade de tratamento, as águas residuárias brutas são tratadas por processos naturais, com o auxílio de algas e bactérias, em grandes tanques de pequena profundidade. Na década de 70, com o aumento do interesse por processos de depuração das águas, as lagoas de estabilização passaram a receber atenção dos técnicos sanitários. Como no Brasil existem empecilhos financeiros para investimento em saneamento, formas de tratamento que maximizem os benefícios e reduzam os desperdícios, como as lagoas de estabilização, são soluções eficientes e economicamente viáveis (Silva Filho, 2007).

Porém, devido a simplicidade operacional das lagoas de estabilização pode ocorrer descaso na manutenção, além disso essa modalidade de tratamento dificilmente satisfaz padrões de lançamento mais restritivos, a performance do tratamento varia com as condições climáticas (radiação solar, temperatura e vento) e pode ser necessária uma remoção de algas posterior ao tratamento.

As algas verdes e cianobactérias desempenham papel fundamental no tratamento, fazendo com que o líquido na superfície das lagoas seja predominantemente verde. Elas se concentram na superfície das lagoas para captar luz solar, realizam fotossíntese, produzem a matéria orgânica necessária para sobreviver e respiram oxidando a matéria orgânica, com um saldo positivo de oxigênio. N fundo das lagoas a produção de oxigênio se iguala ao consumo pelas próprias algas ou organismos decompositores (Von Sperling, 2019).

3.3.2. Estação de Tratamento de Esgoto do Paranoá (DF)

A ETE Paranoá é composta por nove lagoas, conforme a figura 3.9, está localizada na DF-001, km 15, à jusante do Lago Paranoá, conforme o identificado na figura 3.10. De acordo com a CAESB, esta ETE atende a População do Paranoá, de 74.690 habitantes e do Itapuã, de 64.747 habitantes (Codeplan, 2019). A região possui grande disponibilidade de área para instalação da ETE e existia uma demanda, na década de 90, por parte da população do Paranoá de haver uma ETE para atender a região (Soares, 1999).



Figura 3.9 Disposição, em planta, das nove Lagoas de Alta Taxa da ETE Paranoá, localizada no Distrito Federal, administrada pela CAESB (Google Earth, 2022).



Figura 3.10 Imagem de satélite com a localização da ETE Paranoá, próxima ao Lago Paranoá, no Distrito Federal, administrada pela CAESB (Google Earth, 2022).

O sistema é composto por tratamento preliminar, medidor de vazão tipo Calha Parshall, desarenador, três Reatores Anaeróbios de Fluxo Ascendente (UASB/RAFA) seguidos das lagoas aeróbias de alta taxa com escoamento superficial, mas esse escoamento atualmente não ocorre, conforme ilustrado no esquema da Figura 3.11. A vazão de projeto é de 112 L/s, porém este valor muitas vezes é ultrapassado, devido ao aumento, maior do que o previsto no projeto, da população atendida pela ETE Paranoá, impactando no tratamento.

Cada RAFA alimenta três lagoas de estabilização de alta taxa. Sistema de tratamento de baixo custo e de operação e manutenção simples (Nascimento, 2019). O efluente final é lançado em um córrego que deságua no rio Paranoá, que confui para o rio São Bartolomeu. O sistema de lagoas de estabilização de alta taxa tem o objetivo de realizar o pós-tratamento dos reatores anaeróbios (Nascimento, 2001). Nesta ETE não existe lagoa de maturação.

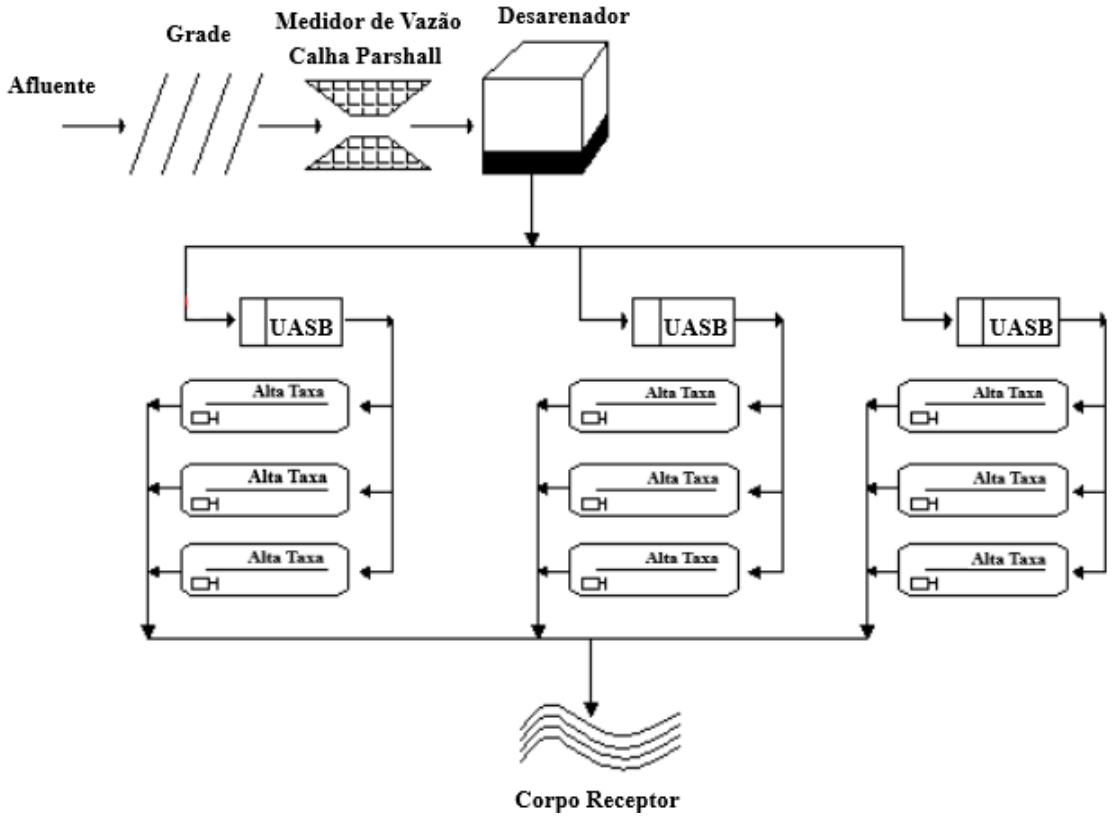


Figura 3.11 Fluxograma esquemático adaptado da ETE Paranoá, Distrito Federal. O Afluente passa pela grade, segue para o medidor de vazão, desarenador, se divide em três reatores UASB, e de cada reator seguem para três Lagoas de Alta Taxa, por fim sendo encaminhado para o Corpo Receptor (Silva, 2007 e Nascimento, 2019).

3.3.2.1. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente

Os reatores anaeróbios de manta de lodo e fluxo ascendente, também conhecidos como RAFA ou UASB são formas de tratamento primário biológico anaeróbio em meio suspenso, nos quais ocorre a remoção anaeróbia da matéria orgânica. São uma alternativa às lagoas aeradas convencionais e apresentam algumas vantagens, quando implementados em locais de clima quente, como o Brasil. É um sistema compacto, com baixo custo de implantação e operação, baixo consumo de energia e menor produção de lodo. Possui eficiência satisfatória na remoção de DBO, em torno de 60 a 80% (Von Sperling, 2019).

O tempo de detenção celular é alto, pois os microrganismos são lentos em seu desenvolvimento e reprodução. Porém, os reatores UASB funcionam com base no Separador Trifásico (Figura 3.12), que separa gases, sólidos e líquidos, sistema no qual o biogás é removido pela tubulação central, o líquido sai pelas laterais e o sólido, lodo, fica retido no fundo. Desse modo, desconecta-se o tempo de detenção hidráulico do celular,

pois os micro-organismos sedimentam e ficam no reator, continuando a se desenvolver, e apenas o líquido é removido. Durante o processo há geração de resíduos, o lodo biológico é desidratado e transportado a destinação final ou retorna ao início do processo (Chernicharo, 2016).

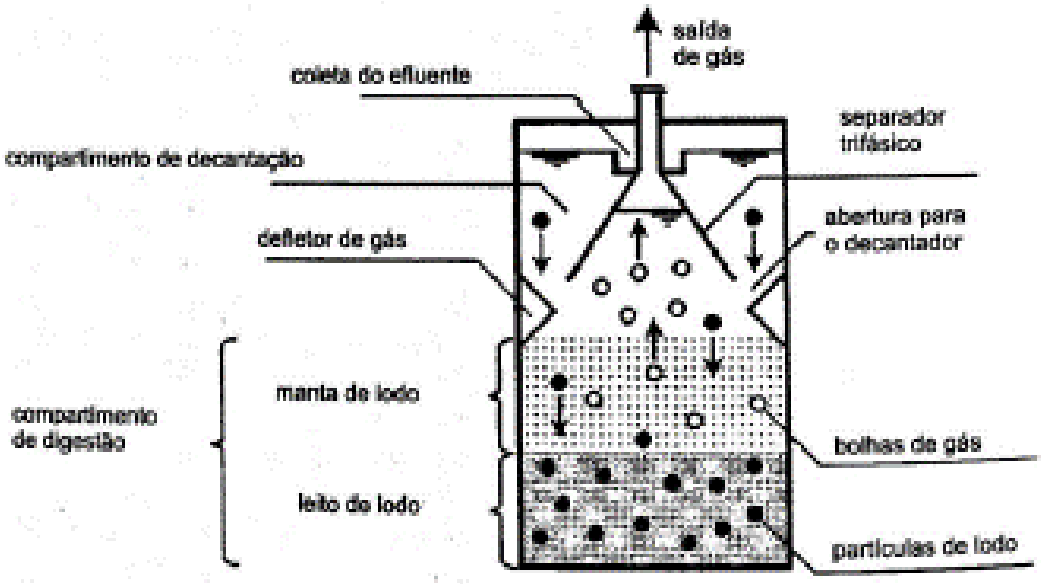


Figura 3.12 Representação esquemática do Reator UASB, onde ocorre a remoção anaeróbia da matéria orgânica (Chernicharo, 2016, Vol 5, p 198).

3.3.2.2. Lagoas de Alta Taxa

Com o objetivo de reduzir as grandes áreas requeridas pelas Lagoas de Estabilização Facultativas, têm se implementado as Lagoas de Alta Taxa nos sistemas de tratamento de esgotos. Estas realizam o pós-tratamento do efluente anaeróbio, um processo secundário, com o objetivo da remoção adicional de nutrientes e DBO, seu funcionamento está relacionado as condições climáticas, temperatura e radiação. As algas verdes ou as cianobactérias realizam fotossíntese, capturam gás carbônico e liberam oxigênio no meio para os microrganismos aeróbios degradadores, promovendo a estabilização da matéria orgânica dos efluentes. Apresenta bom desempenho na remoção da matéria carbonácea e de nutrientes, N e P.

As Lagoas de Alta Taxa apresentam reduzida área superficial de tratamento por habitante, tempo de residência de 2 a 12 dias e profundidade de 0,30 a 0,60 metros. Para manter uma homogeneização da massa de água é necessária uma agitação constante, aeração completa. Os impulsionadores garantem a oxigenação e fazem com que o efluente circule, formando

lagoas de mistura completa, em sistema fechado, sem sedimentação e com maior exposição das algas ou cianobactérias a luz e garantindo um processo aeróbio.

Devido a introdução de mecanização, as lagoas aeradas possuem manutenção e operação menos simples do que as facultativas convencionais. Possuem alto poder gerador de biomassa de algas verdes e cianobactérias, as quais aproveitam os nutrientes contidos nas águas residuárias. A sua operação é de baixo custo, quando comparadas com o sistema de Lodos Ativado e são vantajosas por realizarem o controle da poluição dos recursos hídricos, com boa remoção de matéria orgânica. Ademais, a biomassa é uma fonte renovável de geração de energia (Von Sperling, 2019).

3.3.3. Potenciais problemas das Lagoas de Alta Taxa

Conforme o mencionado, a densidade do fitoplâncton nas lagoas de estabilização de alta taxa, o local e o clima (radiação solar, temperatura e vento) podem influenciar o desempenho do tratamento. Então, a identificação e quantificação das espécies e sua relação com os parâmetros de qualidade da água ajudam a compreender a dinâmica do tratamento de águas residuais e fornecer informações úteis para a operação e manutenção de lagoas de estabilização. Além disso, como as cianobactérias são potencialmente tóxicas, elas devem ser quantificadas após o tratamento, no efluente final, antes do lançamento para evitar florações no corpo hídrico receptor (D'Alessandro, 2020).

As lagoas são dimensionadas e operadas com o objetivo de realizar a depuração da matéria orgânica em condições controladas e taxas elevadas. Porém, o dimensionamento inadequado do sistema de aeração e o aumento da carga de esgoto que flui para a ETE, podem promover ambientes impróprios para o crescimento dos micro-organismos, prejudicando o tratamento. Ademais, o conhecimento da capacidade de autodepuração do rio é importante para possibilitar a utilização desse serviço ambiental e impedir o lançamento de despejos acima da capacidade de suporte do corpo receptor, que altere a dinâmica da biota aquática (Von Sperling, 2016 e Pessoa, 2017).

A modalidade de tratamento de esgoto com Lagoas de Estabilização é amplamente utilizada no Brasil. Entretanto, objetivando a eficácia das lagoas, é importante que sejam realizadas a operação e manutenção adequadas, que o efluente passe por todas as etapas do tratamento, os operadores sejam capacitados e exista um programa de monitoramento. Com isso evita-se que a matéria orgânica não seja biodegradada e ocorra o aporte destes componentes e microrganismos nos corpos hídricos, causando eutrofização (Silva Filho,

2007). Há medida que as eutrofizações e o florescimento excessivo de cianobactérias tornam-se mais comuns, o perigo a saúde aumenta (Huisman, 2018).

3.4. AVALIAÇÃO E CONTROLE DA POLUIÇÃO DA ÁGUA

3.4.1. Enquadramento dos Corpos Hídricos em Classes

De acordo com a Resolução nº 02 de 2014 do Conselho de Recursos Hídricos do DF, que aprova o enquadramento dos corpos de água superficiais em classes, segundo os usos preponderantes, o Rio Paranoá, do ponto de lançamento da ETE Paranoá, ilustrado na Figura 3.13, até confluência com o Rio São Bartolomeu é Classe 3. Porém, o Rio Paranoá se divide em três rios: Médio Rio São Bartolomeu, Classe 3, Baixo Rio São Bartolomeu e Rio Capão da Onça, ambos Classe 2. Conforme a Resolução CONAMA nº 357 de 2005, corpos hídricos de águas doces Classe 3 podem ser destinados ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado, irrigação de culturas arbóreas, pesca amadora, recreação de contato secundário e dessedentação de animais e de Classe 2 à proteção das comunidades aquáticas, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças e pesca.

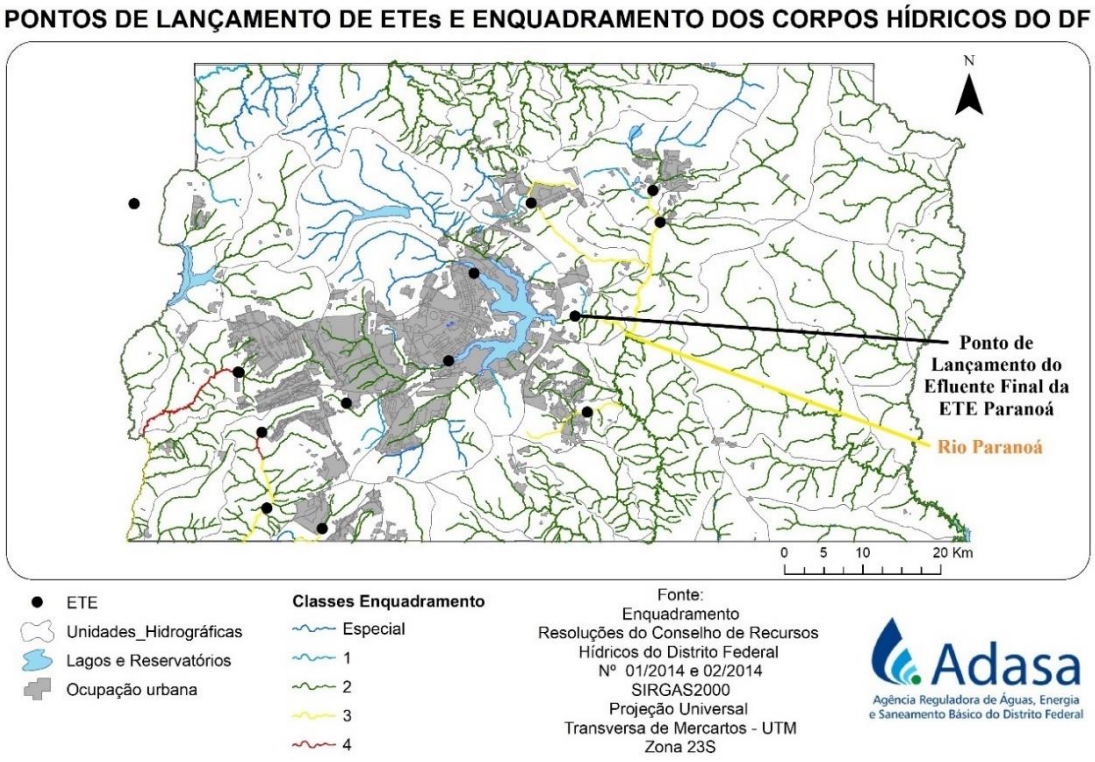


Figura 3.13 Pontos de Lançamento dos Efluentes Finais das ETEs e Enquadramento dos Corpos Hídricos do DFem Classes, com adaptação para visualização do local de lançamento da ETE Paranoá e Rio Paranoá (ADASA, 2021).

De acordo com o artigo 16º, da Resolução do CONAMA nº 357 de 2005, as águas doces de Classe 3, devem apresentar as seguintes condições de qualidade de água: não verificação de efeito tóxico agudo a organismos, DBO 5 dias a 20°C até 10 mg/L O_2, Clorofila-a até 60 µg/L, Fósforo total até 0,05 mg/L, Turbidez até 100 UNT e pH: 6,0 a 9,0. Além disso, no artigo 24°, Resolução CONAMA nº 357 de 2005, fica definido que os efluentes de fontes poluidoras só poderão ser lançados, nos corpos de água, após o tratamento que obedeça às condições, padrões e exigências de qualidade da água dispostos na Resolução.

Um importante indicador de qualidade da água, calculado pela ADASA, no DF é o Índice de Conformidade ao Enquadramento (ICE), que é uma adaptação de um modelo de índice de qualidade da água desenvolvido pela comissão técnica de qualidade da água do Canadá (CCME, 2001). Esse modelo visa acompanhar a qualidade da água do corpo hídrico e compará-la com o enquadramento. Tal índice classifica os corpos hídricos em conforme (qualidade compatível com a classe do enquadramento), adequado (qualidade apresenta pequenos desvios com a classe do enquadramento), regular (qualidade apresenta desvios moderados com a classe do enquadramento) e afastado (qualidade apresenta desvios significantes com a classe do enquadramento). No DF existem corpos hídricos que não estão de acordo com o enquadramento, de acordo com o mapa da Figura 3.14.

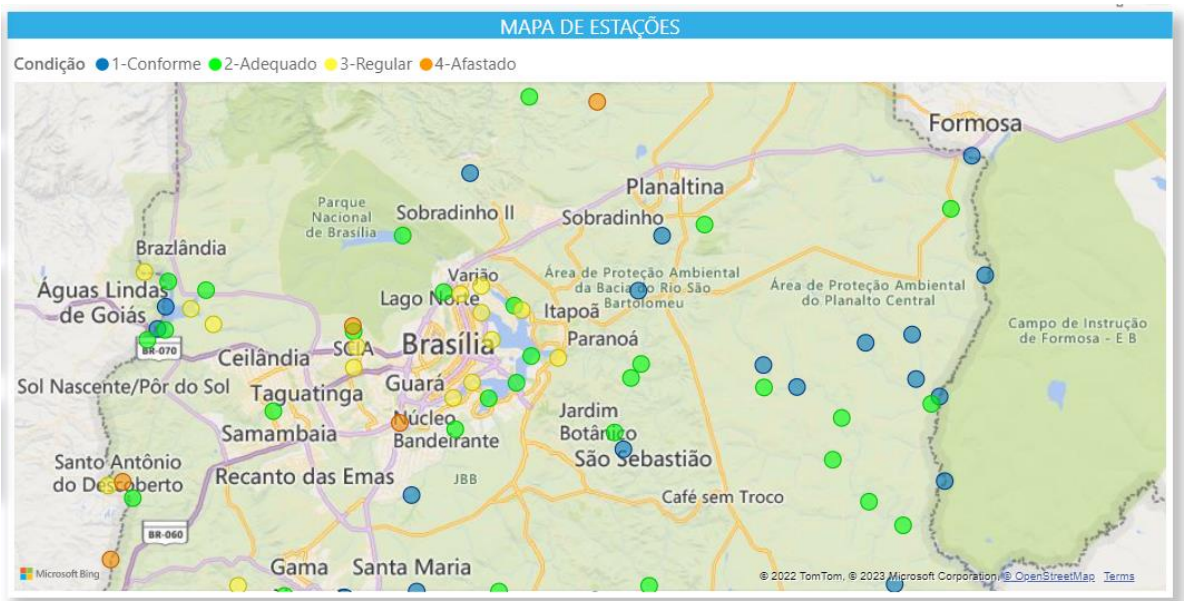


Figura 3.14 Mapa do DF com informações do ICE que classifica corpos hídricos conforme a compatibilidade com a classe em que foram enquadrados (ADASA, 2021).

3.4.2. Ecotoxicologia

Os seres humanos são o topo de muitas cadeias alimentares e há poucos ecossistemas nos quais a espécie humana não exerce ou sofre influência ou impacto. Desse modo, torna-se muito importante o estudo da ecotoxicologia, dos efeitos adversos gerais causados aos organismos por substâncias químicas liberadas no meio, para proteção de populações da ação dessas substâncias tóxicas. Além disso, os compostos podem interagir entre si de forma aditiva, antagônica ou sinergística. A intoxicação pode ser classificada quanto à exposição ao agente tóxico como aguda, com rápida exposição e absorção do agente tóxico e crônica, com exposições repetidas por um longo período, em geral abarcando a maior parte do ciclo de vida do organismo testado (Azevedo, 2004).

Os efeitos e impactos ambientais causados pelos poluentes sobre um ecossistema são complexos, porém, uma forma de identificação é pelas respostas dos organismos indicadores, pelos ensaios ecotoxicológicos. As análises físicas e químicas convencionais da qualidade da água não indicam as substâncias causadoras dos efeitos nos organismos. Assim, os testes de toxicidade tornam-se mais importantes à medida que as substâncias liberadas no ambiente são mais diversas, complexas e menos conhecidas, devido a possibilidade de indicar impactos (Costa, 2008 e Magalhães, 2008). No Brasil, a Resolução CONAMA nº 357 de 2005 utiliza os ensaios ecotoxicológicos na classificação de corpos d'água e esta avaliação é utilizada em diversos outros países.

Nos ensaios de toxicidade crônica, em geral avalia-se a inibição no crescimento dos organismos-teste aos contaminantes em concentrações sub-letais e devem ser realizados de acordo com as normas técnicas. No Brasil, a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) disponibiliza as metodologias a serem utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos para avaliação de contaminantes no ambiente natural. Tais ensaios são necessários para estabelecer as concentrações limites, dentro de padrões de segurança regulamentados e para sugerir medidas preventivas antes dos danos ambientais (Sisinno, 2013). A norma ABNT NBR 12.648 de 2018, define os procedimentos para realização de ensaios de toxicidade crônicos com *Chlorophyceae* (um dos principais grupos de microalgas).

4. METODOLOGIA

4.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS E PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizadas as definições da norma NBR 12.648 de 2018, de forma simplificada, para realização de ensaios de toxicidade crônica com *Chlorophyceae* (microalga). A microalga utilizada foi a *Monoraphidium capricornutum,* que não se encontra listada na norma, porém é a mais utilizada, de cordo com a literatura para esse tipo de ensaio. Além disso, não foram feitas cinco diluições para cada tratamento, apenas duas, devido às limitações de espaço, materiais e equipamentos no laboratório e de tempo de realização do projeto. Na Figura 4.1 está ilustrado um fluxograma resumido das etapas da pesquisa que serão abordadas e explicadas a seguir.

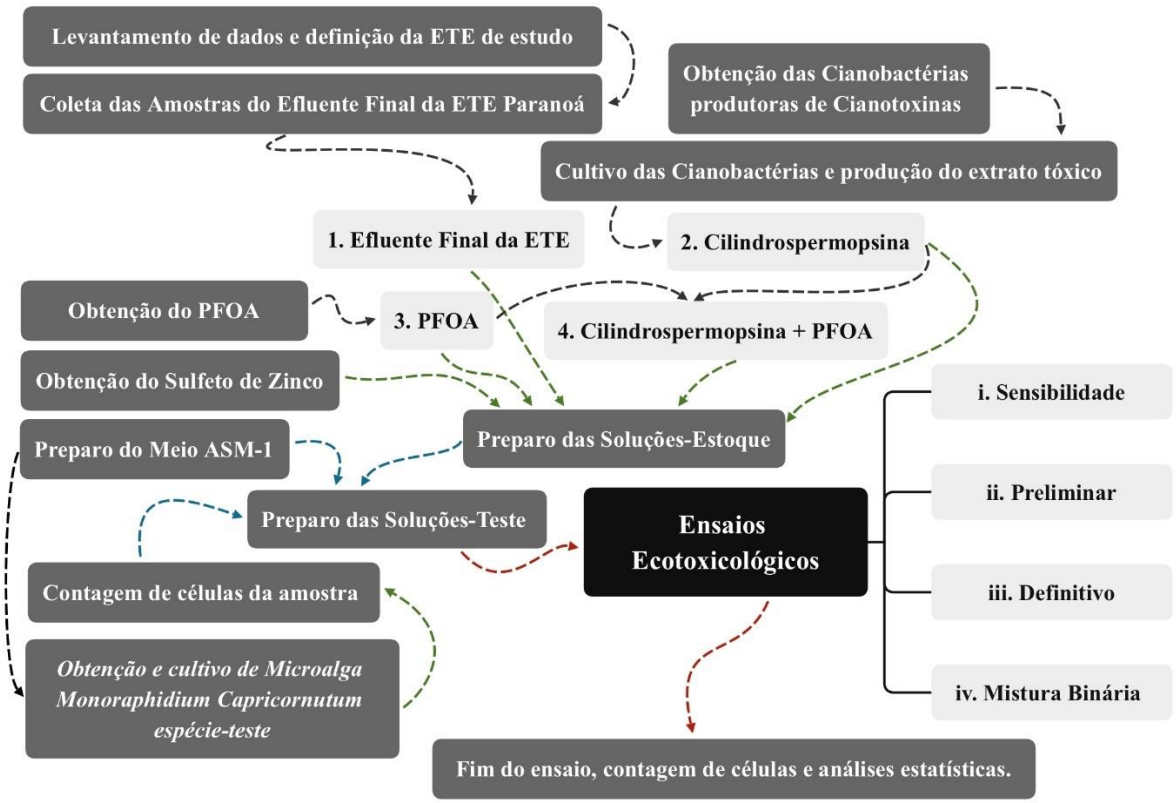


Figura 4.1 Fluxograma Metodológico da Pesquisa (Fonte: Autoral).

Primeiramente, foi realizado o ensaio de sensibilidade com substância de referência, o sulfato de zinco, para verificar se haveria resposta adequada da espécie de cultivo. Em seguida, foi realizado o ensaio preliminar, para definição das diluições de maior interesse de análise. Na sequência, realizou-se o ensaio definitivo, e por fim, o ensaio de mistura binária. Dessa forma, foram testados os impactos da presença de um extrato de

cianobactéria contendo cianotoxina (cilindrospermopsina), PFOA, do Efluente Final da ETE Paranoá, e suas misturas binárias, ao crescimento da microalga clorofícea *Monoraphidium capricornutum*.

4.2. LEVANTAMENTO DE DADOS E DEFINIÇÃO DA ETE DE ESTUDO

Foram visitadas algumas e estudadas as quinze estações de tratamento de esgoto do Distrito Federal. Nesse contexto, percebeu-se que a ETE Paranoá não possui Lagoa de Maturação, polimento final ou clarificador, além disso, o tratamento é exclusivamente biológico, não tem tratamento químico. Tais características propiciam que exista parcela remanescente de cianobactérias no efluente final. Sarah Brito, mestranda do Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos (PTARH) da Universidade de Brasília (UnB), confirmou as suspeitas e em suas análises, identificou a presença de cianobactérias no efluente final da ETE Paranoá.

Após visita ao local constatou-se pela coloração e odor do efluente final das lagoas que o tratamento está inadequado. Desse modo, escolheu-se esta ETE para realização dos ensaios de toxicidade crônica com microalgas, devido à baixa qualidade observada do efluente e a existência de cianobactérias no efluente final. Os ensaios também foram realizados com cilindrospermopsinas, as cianotoxinas produzidas pelas cianobactérias cultivadas e PFOA, pois pode ser que estes contaminantes emergentes estejam presentes no Efluente Final da ETE Paranoá.

4.3. COLETA DE AMOSTRAS NA ETE PARANOÁ

Para realização do ensaio de toxicidade, foi coletada amostra do efluente final das lagoas de estabilização de alta taxa da ETE Paranoá pela Sarah Brito, mestranda do PTARH-UnB. Na ETE existe uma saída para o efluente tratado pelo conjunto das nove lagoas de alta taxa, ponto no qual foi realizada a coleta das amostras, no dia 06 de setembro de 2022. Tais amostras foram mantidas em congelador, na temperatura de -10ºC, para preservar suas propriedades e características, em recipiente registrado na Figura 4.2.

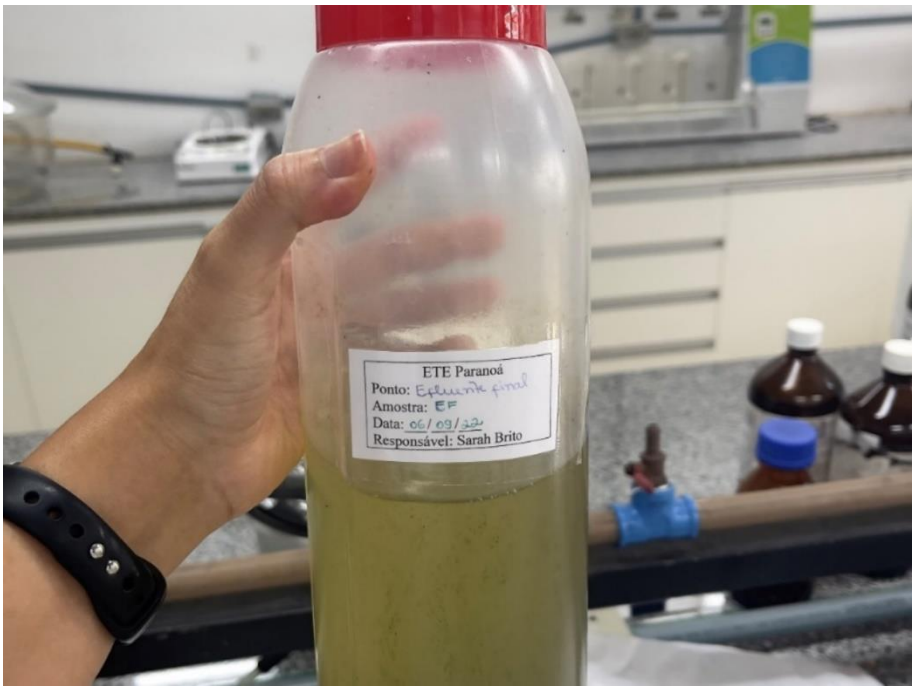


Figura 4.2 Efluente Final da ETE Paranoá, DF, coletado no dia 06/09/2022 e armazenado em congelador para manutenção de suas propriedades.

De acordo com o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), Brasília possui um período do ano seco, de março a agosto e outro chuvoso, de setembro a abril. A ADASA é a responsável pelo monitoramento das águas pluviais e fluviais no DF e conta com diversas estações telemétricas para isso. O Lago Paranoá está localizado a montante da ETE Paranoá, dessa forma a Estação de Monitoramento da Barragem Lago Paranoá, código: 60479230, de responsabilidade da ADASA – DF, é adequada para verificação da pluviosidade no local da coleta do Efluente Final. Conforme os registros dessa estação, as chuvas se iniciaram em meados de setembro de 2022. Dessa forma, quando foi realizada a coleta, dia 06 de setembro de 2022, ainda não havia se iniciado o período chuvoso, então o efluente estava mais concentrado do que no período de chuva.

4.4. ENSAIOS DE TOXICIDADE CRÔNICA

Na etapa laboratorial, as análises ocorreram no Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA) do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental (ENC) da UnB.

4.4.1. Preparo do Meio de Cultivo

Os meios de cultivo são utilizados para fornecer as condições e os nutrientes necessários para sobrevivência e multiplicação das microalgas, os tipos variam de acordo com as

demandas nutricionais necessárias (Jacinavicius, 2013). O meio de cultivo utilizado para a manutenção da cepa de *Monoraphidium capricornutum* foi o meio líquido AMS-1 (Gibson, 1982), preparado no laboratório utilizando quatro soluções-estoque (A, B, C e D) com concentrações pré-definidas de reagentes e água deionizada. Os meios foram preparados em erlenmeyers de 2.000 mL.

Para o preparo do meio utilizou-se erlenmeyers de dois litros, devidamente limpos com ácido clorídrico e água destilada. Ressalta-se que o pH do meio deve estar inserido na faixa compreendida entre 7 e 8, dessa forma, utilizou-se o pHmetro, para verificação do pH da solução. Tal equipamento deve ser calibrado com soluções prontas para calibração, com pHs 4 e 7. Após o preparo do meio, se o meio estiver ácido, inferior ao pH desejado, deve-se adicionar solução concentrada de NaOH e se tiver básico, maior do que o pH desejado, deve-se adicionar solução concentrada de HCl. Por fim, deve-se vedar o erlenmeyer com o meio preparado com tampão, cobrir com papel pardo e autoclavar para esterilização.

4.4.2. Cultivo da microalga

A microalga clorofícea unicelular escolhida para organismo-teste foi a *Monoraphidium capricornutum,* representada na Figura 4.3, e foi cultivada de acordo com o Protocolo da ABNT NBR 12.648 de 2018. A clorofícea foi gentilmente cedida pela Profa. Sandra M.F.O. Azevedo do LETC-IBCCF da Universidade Federal do Rio de Janeiro e cultivada no LSA.

Primeiramente, dentro da câmara de fluxo laminar, que torna o ambiente estéril, foram inoculados 10 mL do cultivo da alga em erlenmeyers de 500 mL, com 200 mLs de meio. Estes cultivos foram mantidos, em ambiente controlado, sob intensidade luminosa de aproximadamente 55 $\mu E.m^{-2}s^{-1}$, temperatura de 25 ± 2ºC, pH 7,5, fotoperíodo de 12 horas e agitados diariamente. Posteriormente, foi preparado um sistema de aeração constante, com filtro de ar, e realizado o inóculo do conteúdo dos dois erlenmeyers cultivados e em fase exponencial de crescimento no volume único de 2L de meio, como mostrado na Figura 4.4.

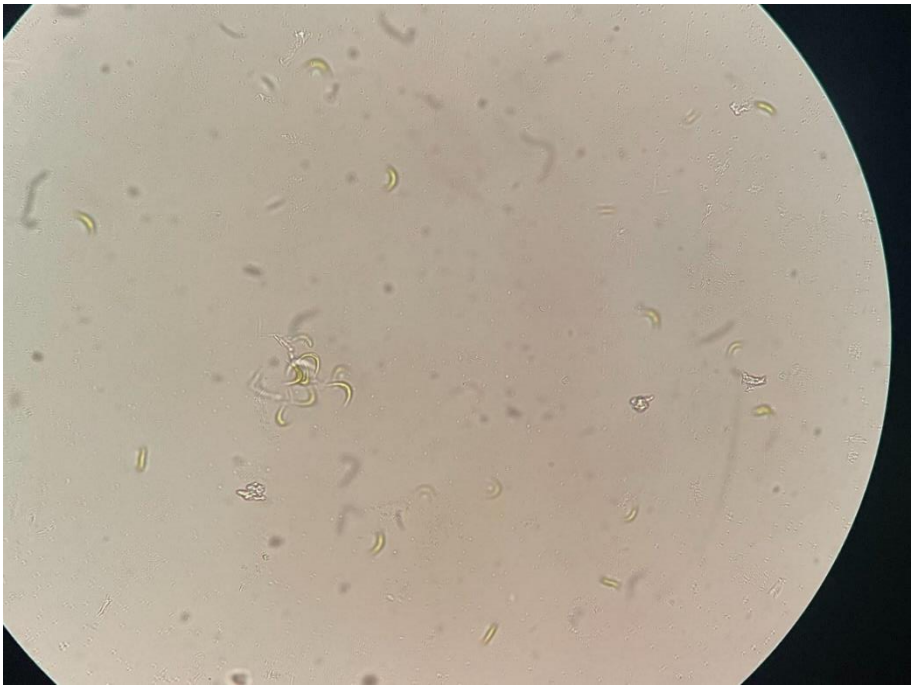


Figura 4.3 Microalga clorofícea *Monoraphidium capricornutum,* unicelular, cultivo unialgal. Imagem registrada no Microscópio Leica DM LB2, com aumento de 100 vezes.

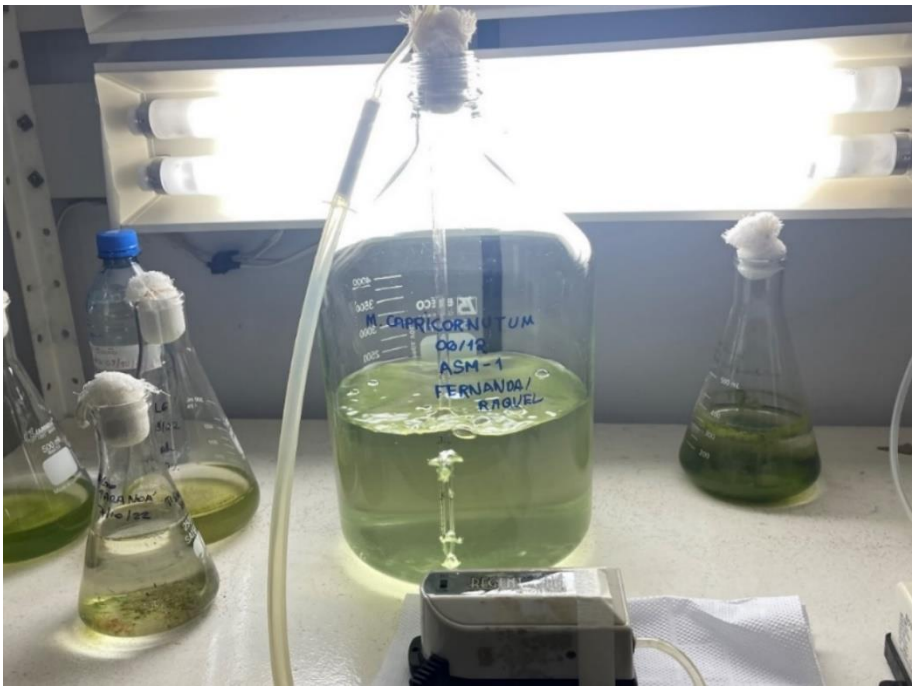


Figura 4.4 Meio de cultivo aerado para manutenção da cepa de *Monoraphidium capricornutum*.

4.4.3. Preparo das Soluções-Estoque

4.4.3.1. Sulfato de Zinco Heptahidratado

O Sulfato de Zinco Heptahidratado ($ZnSO_4.7H_2O$) é um composto químico incolor, solúvel em água, utilizado para testar a resposta da espécie-teste, a microalga *Monoraphidium capricornutum.* O composto foi obtido do Departamento de Química da UnB, na forma sólida. Então, em balança digital de alta precisão, foram pesados quinhentos miligramas de Sulfato de Zinco Heptahidratado e solubilizado em balão volumétrico, com 50 mililitros de água deionizada, resultando em uma solução na concentração de 10 g/L.

4.4.3.2. PFOA

Conforme o mencionado PFOA é um contaminante emergente que já foi detectado em corpos de água do Distrito Federal, dessa forma pode estar presente no efluente final da ETE Paranoá, então decidiu-se analisar seus impactos no crescimento das microalgas. O composto foi obtido comercialmente em grau de pureza analítico e solubilizado em água deionizada para o preparo da solução-estoque na concentração de 100 mg/L.

4.4.3.3. Cultivo e produção de extrato tóxico de cianobactéria

A cianotoxina cilindrospermopsina é uma das substâncias tóxicas escolhidas para os ensaios ecotoxicológicos desse trabalho, por possivelmente estarem presentes em efluente final da ETE Paranoá. A cepa CYP011K de cianobactéria da espécie *Raphidiopsis raciborskii* foi gentilmente cedida pela Profa. Sandra M.F.O. Azevedo do LETC-IBCCF da Universidade Federal do Rio de Janeiro e mantida em banco de cultura no LSA há vários anos. O extrato utilizado nesse trabalho foi produzido por Daniel Valencia, doutourando do PTARH-UnB, a partir de cultivo em grande volume da cepa. O processo da produção do extrato tóxico, contendo a cianotoxina cilindrospermopsina, consistiu em um processo de três ciclos de congelamento e descongelamento do volume de cultivo para rompimento das células e liberação das toxinas intracelulares no meio líquido.

Após a produção do extrato, o volume de cultivo foi homogeneizado e filtrado em filtro de borossilicato, e por fim na membrana de 0,45 µm de porosidade, para remoção do material particulado. O extrato foi mantido em congelador, e posteriormente a concentração da cianotoxina foi medida pela mestranda Helzalyce Novaes (PTARH-UnB) espectrometria

de massas sequencial (MS-MS) de acordo com metodologias estabelecidas no LSA para cilindrospermopsina, e a concentração encontrada na amostra utilizada foi de 180 µg/L.

4.4.3.4. Efluente Final da ETE Paranoá

O Efluente Final da ETE Paranoá, mantido em freezer logo após a coleta, foi descongelado anteriormente ao ensaio e filtrado com filtro de fibra de vidro, para remoção do material particulado, conforme o registrado na Figura 4.5. O volume final apresentou características de transparência e ausência de odor.



Figura 4.5 Filtro utilizado para filtrar o Efluente Final da ETE Paranoá a ser utilizado no ensaio.

4.4.4. Preparo das Soluções-Teste (Ensaios)

De acordo com Norma NBR 12.648 de 2018, o ensaio crônico com algas, consiste na exposição de organismos-teste (*Monoraphidium capricornutum*) à amostra durante um período de 96 ± 2 horas. Para iniciar os experimentos, preparou-se as soluções-testes, que são as amostras em que é exposta a espécie-teste, e que são constituídas do meio de cultivo para diluição, do inóculo dos organismos-teste e da solução-estoque, nas diluições ou concentrações planejadas, expostas a seguir.

Preparou-se também, o tratamento controle, que reproduz as condições do ensaio, possui a mesma concentração inicial de células por mL que as soluções-teste, mas sem a presença

da solução-estoque, potencialmente tóxica, apenas com o meio ASM-1 e o inóculo. Ou seja, reproduz as condições ideais de crescimento dos organismos. Para o preparo das amostras foram utilizados pipetadores automáticos Pipetman, da marca Gilson de precisão de 10 a 100 µL e de 100 a 1000 µL, registrados na Figura 4.6.



Figura 4.6 Pipetas automáticas da marca Gilson, de 10 a 100 µL e de 100 a 1000 µL, utilizadas na preparação dos ensaios.

Conforme a NBR 12.648 de 2018, no dia do ensaio, o cultivo do organismo-teste deve estar em fase exponencial de crescimento. Ou seja, o ideal é que a concentração das algas seja entre 10^3 e 10^5 células por mL. O primeiro passo para montagem do ensaio foi a contagem das células do cultivo de *Monoraphidium capricornutum.* Para tanto, foi utilizado um microscópio óptico de campo claro Leica DM LB2, no aumento de 100 vezes, 10 vezes de aumento na lente objetiva e 10 vezes de aumento na lente ocular (Figuras 4.7 e 4.8).



Figura 4.7 Microscópio Leica DM LB2, utilizado para contagens das células das amostras.

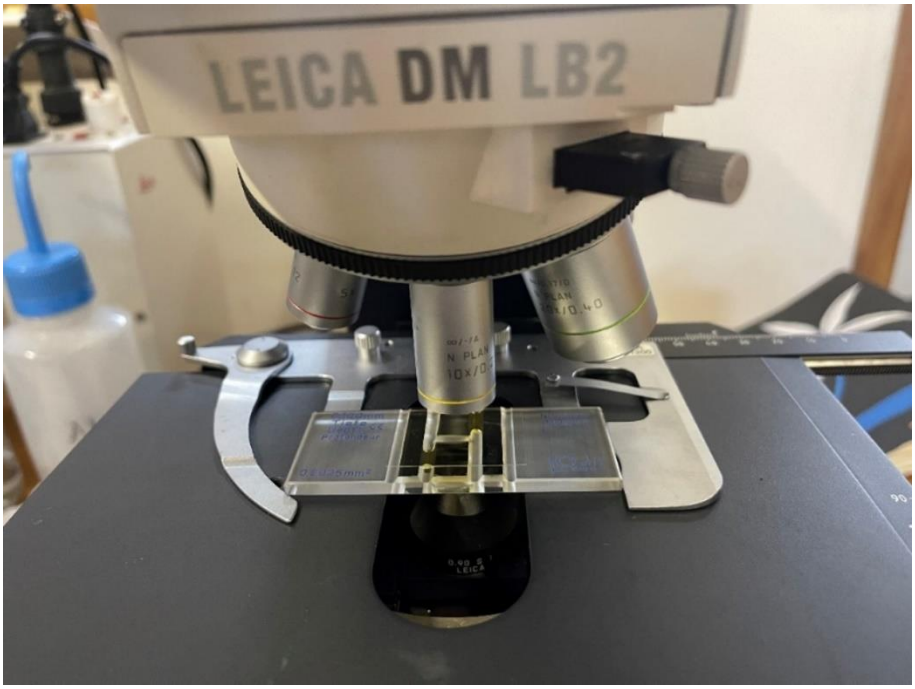


Figura 4.8 Lente objetiva de aumento de 10 vezes do Microscópio Leica DM LB2 e câmera de Neubauer utilizada para contagem das células, posicionada no aparelho.

No microscópio, foi inserida a câmera de Neubauer com 0,1 mm de profundidade e quadrados de 0,0025 mm² de área. Tal câmera, conhecida como hemocitômetro, é composta por dois campos (denominados Campo 1 e 2), cada um com quatro quadrantes grandes (superior esquerdo, superior direito, inferior direito e inferior esquerdo) compostos

de 64 quadrantes menores, conforme o ilustrado na Figura 4.9. Foram contadas, com auxílio de contador manual, as células em cada linha dos quadrantes, conforme o registrado na Tabela 4.1. Para o preparo da amostra na câmara de Neubauer, colocou-se uma lamínula cobrindo os dois campos, então adiciona-se uma gota da amostra na canaleta direta e na esquerda, e aguarda-se cinco minutos para a sedimentação.

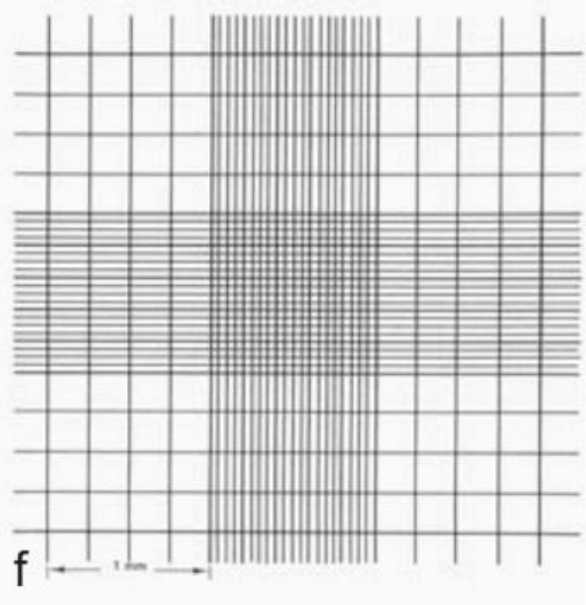


Figura 4.9 Representação de um dos Campos da Câmara de Neubauer Melhorada (Andersen, 2005, p 246).

Tabela 4.1 Tabela de registro de contagem do número de células da amostra (Amostra do cultivo de *Monoraphidium capricornutum*, do dia 09/12/2022).

Campo 1		Total:		168	Campo 2		Total:		162
Quadrante 1 - Superior Esquerdo (16 quadrados)					Quadrante 1 - Superior Esquerdo (16 quadrados)				
Linha 1	10	Linha 3	10	Total	Linha 1	14	Linha 3	10	Total
Linha 2	13	Linha 4	8	41	Linha 2	11	Linha 4	10	45
Quadrante 2 - Superior Direito (16 quadrados)					Quadrante 2 - Superior Direito (16 quadrados)				
Linha 1	6	Linha 3	16	Total	Linha 1	7	Linha 3	7	Total
Linha 2	14	Linha 4	8	44	Linha 2	6	Linha 4	8	28
Quadrante 3 - Inferior Esquerdo (16 quadrados)					Quadrante 3 - Inferior Esquerdo (16 quadrados)				
Linha 1	12	Linha 3	12	Total	Linha 1	13	Linha 3	10	Total
Linha 2	11	Linha 4	10	45	Linha 2	15	Linha 4	10	48
Quadrante 4 - Inferior Direito (16 quadrados)					Quadrante 4 - Inferior Direito (16 quadrados)				
Linha 1	15	Linha 3	9	Total	Linha 1	6	Linha 3	13	Total
Linha 2	8	Linha 4	6	38	Linha 2	11	Linha 4	11	41
Campos		64	Média dos campos		165	Nº de Células		$2,58 \times 10^4$	

Após realizada a contagem dos organismos nas amostras, deve-se calcular o número de células por mililitro. Nos hemocitômetros de 0,1 mm, como também são conhecidas as Câmeras de Neubauer melhoradas, o número de células presentes na amostra (cels/mL), é determinado de acordo com a Equação 4-1 (Guillard, 1973). Na Figura 4.10 está ilustrada a imagem do microscópio no momento da contagem de células em amostra muito concentrada.

$$Nº\ de\ Células = \frac{Nº\ de\ Células\ Médio\ nos\ 2\ Campos}{Nº\ de\ Quadrantes\ Contados}\ x\ 10^4 \quad (4\text{-}1)$$

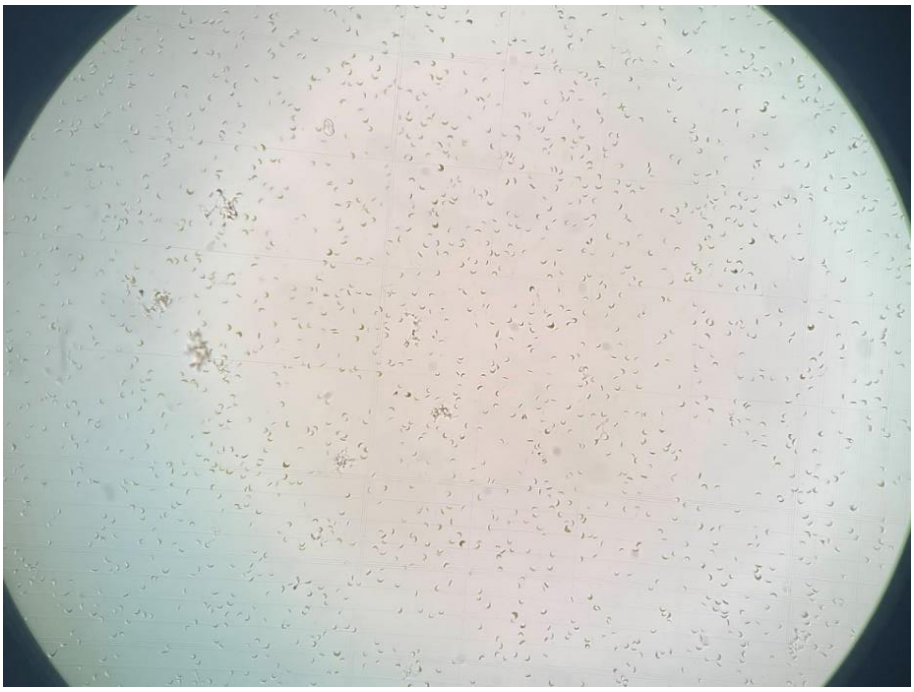


Figura 4.10 Cultivo de *Monoraphidium capricornutum,* em fase exponencial de crescimento, registrado no Microscópio Leica DM LB2 em câmara de Neubaeur.

4.4.4.1. Ensaio de Sensibilidade com Substância de Referência

Conforme o definido na norma NBR 12.648 de 2018, primeiramente, foi realizado ensaio de sensibilidade com Sulfato de Zinco Heptahidratado ($ZnSO_4.7H_2O$) no lote de organismos teste. De acordo com o observado na literatura, concentrações superiores a 100 mg/L de $ZnSO_4.7H_2O$ causam a inibição da taxa de crescimento e diminuição da densidade celular da microalga clorofícea (Minei, 2011).

Dessa forma, foram definidas as seguintes concentrações para análise: 400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, 20 mg/L e 2 mg/L. O ensaio foi realizado em triplicatas, para cada uma

das cinco concentrações e os controles, conforme o ilustrado pela figura 4.11. O ensaio foi montado no dia 09 de dezembro de 2022, em que a concentração de *Monoraphidium capricornutum* era de 1,29 x 10^4 células por mL e foi mantido em ambiente controlado, sob intensidade luminosa de aproximadamente 55 $\mu E.m^{-2}s^{-1}$, temperatura de 25 ± 2ºC, pH 7,5, fotoperíodo de 12 horas, por 96 horas, conforme o registrado pela Figura 4.12.

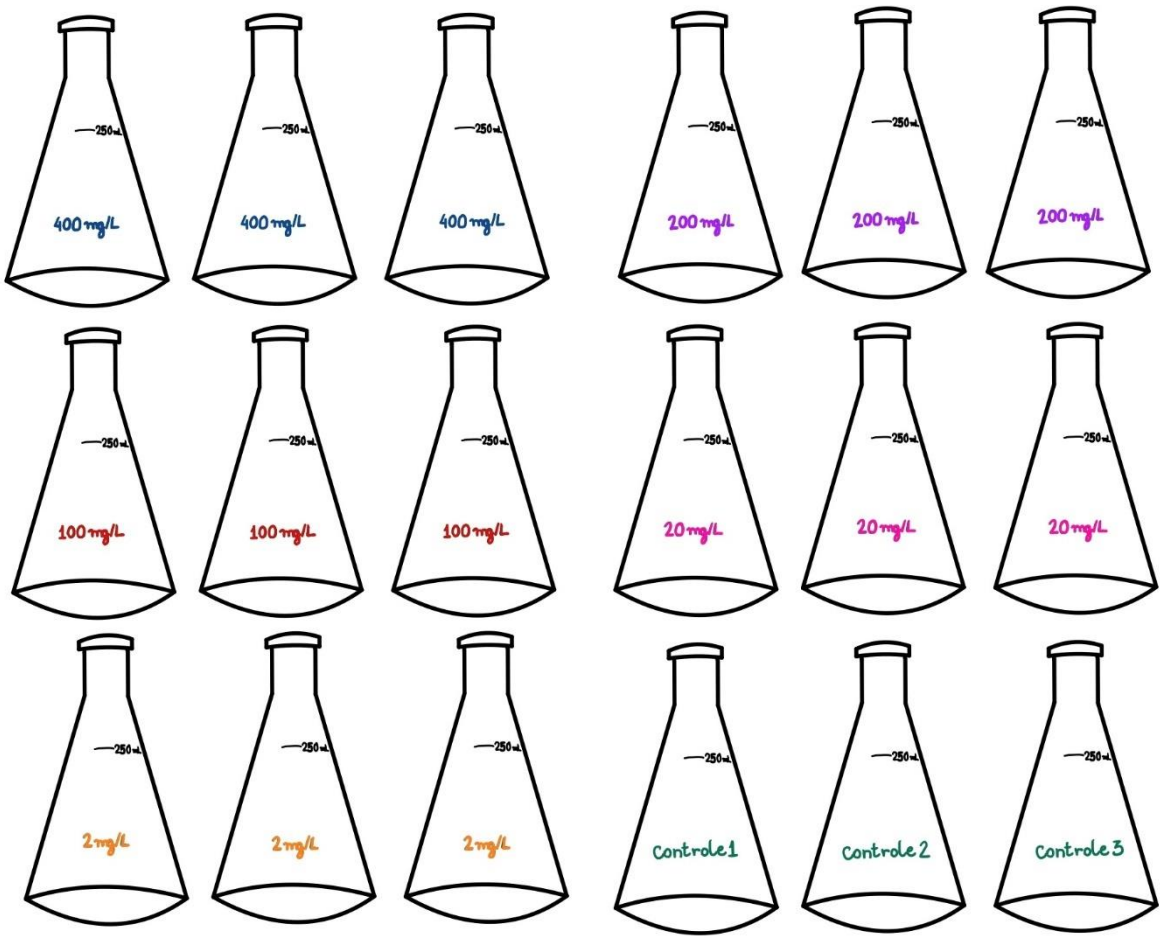


Figura 4.11 Desenho esquemático das triplicatas das cinco diluições definidas para o Ensaio de Sensibilidade com Sulfato de Zinco Heptahidratado (400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, 20 mg/L e 2 mg/L) e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,29 x 10^4 células por mL.



Figura 4.12 Disposição do Ensaio de Sensibilidade montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 09 de dezembro de 2022 e mantido por 96 horas.

4.4.4.2. Ensaio Preliminar

Conforme o mencionado, podem existir nos corpos d'água, concentrações altas de cilindrospermopsina, na faixa de 100µg/L em eventos de grandes florações de cianobactérias. Nesse contexto, escolheu-se as concentrações de 100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 10 µg/L e 5 µg/L para avaliação preliminar da inibição no crescimento da espécie-teste *Monoraphidium capricornutum*, visto que tais concentrações podem ser observadas nos corpos hídricos.

Como ácidos perfluorooctanóicos (PFOA) em concentrações inferiores a 1,0 mg/L não causam efeitos significativos no crescimento das algas (Hu, 2020), optou-se por uma concentração muito maior do que a detectada na ETE Norte, de 34 ng/L (Lorz, 2014), para simular um evento de acidente industrial extremo de exposição a PFOA. Nesse sentido, escolheu-se as concentrações de 2000 µg/L, 1000 µg/L, 500 µg/L, 200 µg/L e 100 µg/L, para avaliação da inibição no crescimento dos organismos-teste.

No Efluente da ETE, mesmo após o tratamento dos esgotos, ainda existe elevada carga orgânica. Dessa forma, escolheu-se as concentrações de EF 50%, 25%, 5%, 1% e 0,5%

para avaliação da inibição no crescimento da espécie-teste. O ensaio não foi realizado em triplicatas, apenas as 15 diluições (5 de cada tratamento) e os controles, conforme o ilustrado pela figura 4.14. O ensaio foi realizado no dia 19 de dezembro de 2022, em que a concentração de *Monoraphidium capricornutum* era de 1,45 x 10^4 células por mL e foi mantido por 96 horas, em ambiente controlado, sob intensidade luminosa de aproximadamente 55 $\mu E.m^{-2}s^{-1}$, temperatura de 25 ± 2ºC, pH 7,5, fotoperíodo de 12 horas, conforme o registrado pela Figura 4.15.

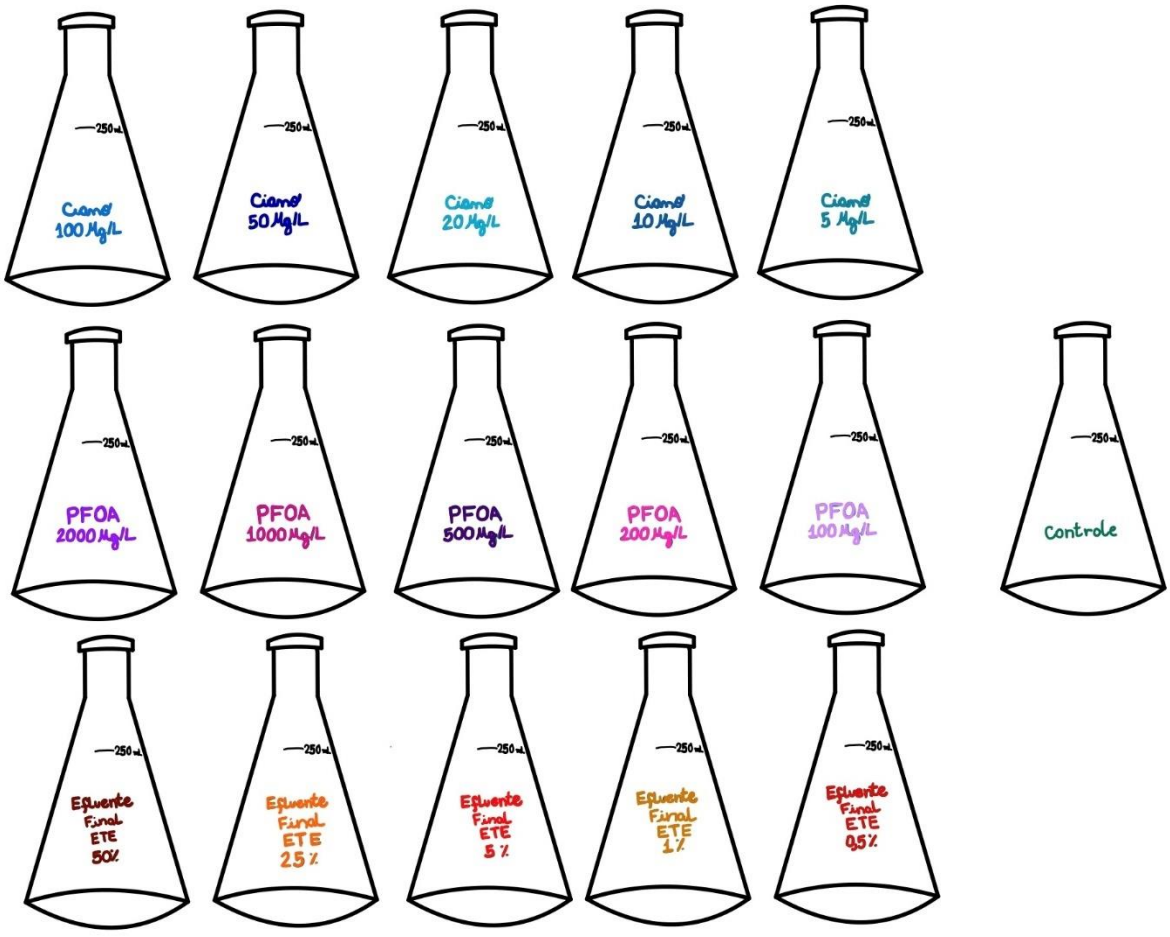


Figura 4.13 Desenho esquemático das cinco diluições dos 3 tratamentos definidos para o Ensaio Preliminar: Cilindrospermopsina (100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 10 µg/L e 5 µg/L), PFOA (2000 µg/L, 1000 µg/L, 500 µg/L, 200 µg/L e 100 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (50%, 25%, 5%, 1% e 0,5%) e o controle. Concentração inicial de células igual a 1,45 x 10^4 células por mL.



Figura 4.14 Disposição do Ensaio Preliminar montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018 dia 19 de dezembro de 2022 e mantido por 96 horas.

4.4.4.3. Ensaio Definitivo

Com base no resultado de contagem de células do ensaio preliminar, definiu-se as concentrações para realização do ensaio definitivo em: 100 µg/L e 50 µg/L para cilindrospermopsina, 2000 µg/L e 1000 µg/L para PFAO e 65% e 25% do Efluente Final da ETE Paranoá, objetivando uma melhor observação de resposta no parâmetro de crescimento das microalgas.

O ensaio foi realizado em triplicatas, para cada uma das seis diluições e os controles, conforme o ilustrado pela figura 4.16. O ensaio foi realizado no dia 06 de janeiro de 2023, em que a concentração de *Monoraphidium capricornutum* era de 1,45 x 10^4 células por mL e foi mantido por 96 horas, em ambiente controlado, sob intensidade luminosa de aproximadamente 55 $\mu E.m^{-2}s^{-1}$, temperatura de 25 ± 2ºC, pH 7,5 e fotoperíodo de 12 horas, conforme o registrado pela Figura 4.17.

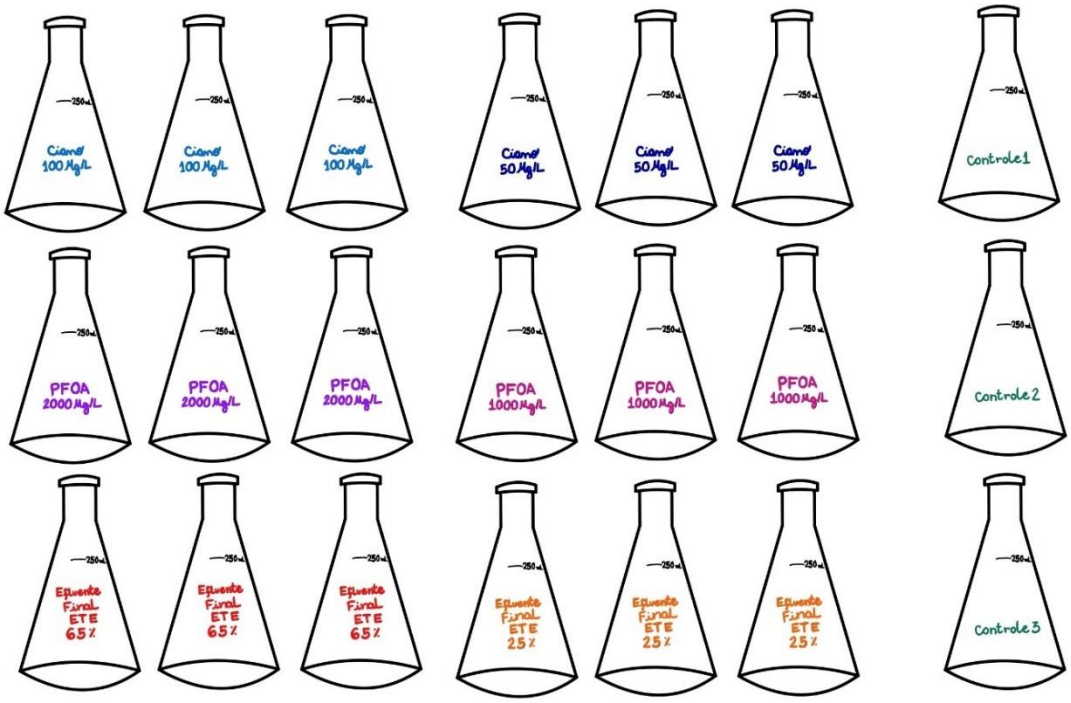


Figura 4.15 Desenho esquemático das triplicatas das duas diluições ou concentrações, para cada um dos três tratamentos definidos para o Ensaio Definitivo: Cilindropermopsina (100 µg/L e 50 µg/L), PFOA (2000 µg/L e 1000 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (65% e 25%) e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,45 x 10^4 células por mL.

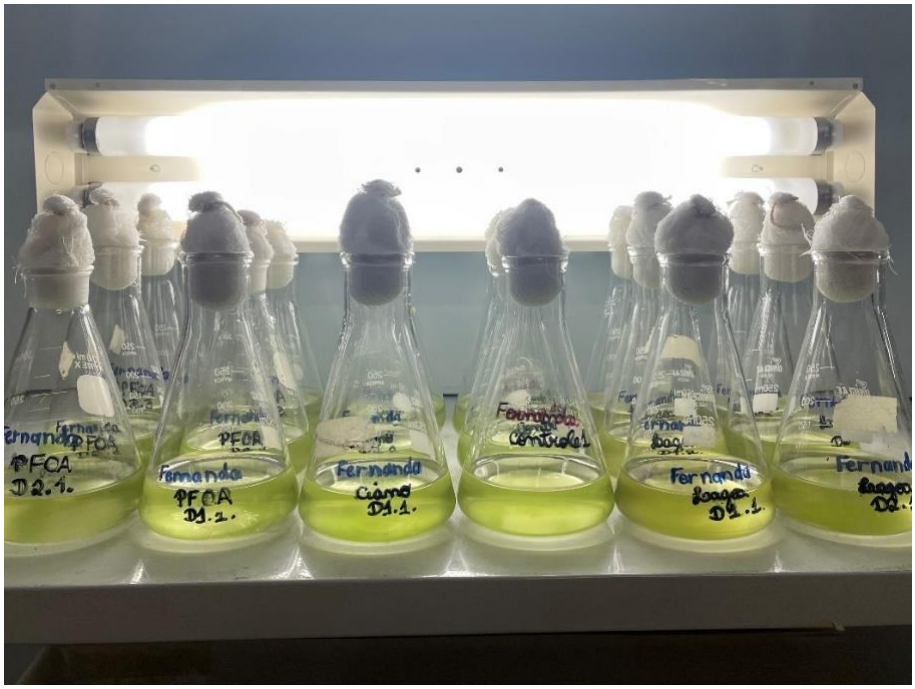


Figura 4.16 Disposição do Ensaio Definitivo montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 06 de janeiro de 2023 e mantido por 96 horas.

4.4.4.4. Ensaio de Mistura Binária

O ensaio de mistura binária, foi realizado com o objetivo de realizar a análise dos efeitos combinados das cilindrospermopsina e PFOA sobre a microalga *Monoraphidium capricornutum*, com três tratamentos: concentração alta CYN + concentração baixa PFOA, vice-versa, e concentrações altas de ambos. As concentrações combinadas foram: Cilindropermopsina [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L], Cilindropermopsina [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L], Cilindropermopsina [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L] com o objetivo de testar combinações das concentrações causadoras de efeito observadas no ensaio definitivo.

O ensaio foi realizado em triplicatas, para cada uma das três diluições e os controles, conforme o ilustrado pela figura 4.18. O ensaio foi realizado no dia 13 de janeiro de 2023, em que a concentração da espécie-teste era de 1,58 x 10^4 células por mL e foi mantido por 96 horas, em ambiente controlado, sob intensidade luminosa de aproximadamente 55 $\mu E.m^{-2}s^{-1}$, temperatura de 25 ± 2ºC, pH 7,5 e fotoperíodo de 12 horas, conforme o registrado na Figura 4.19.

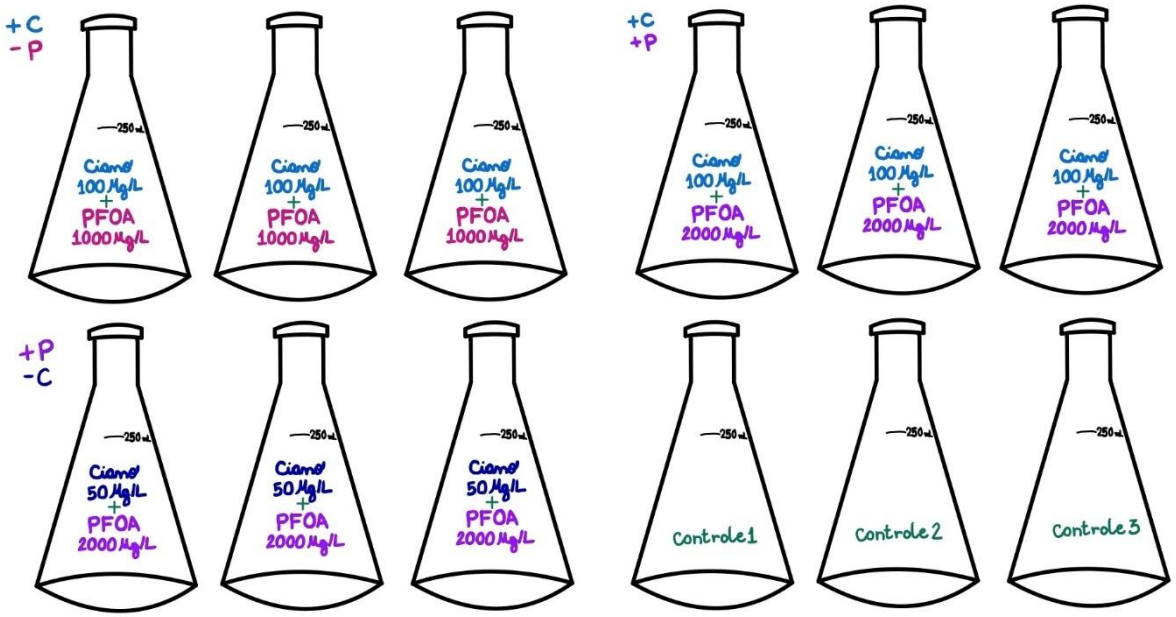


Figura 4.17 Desenho esquemático das triplicatas dos três tratamentos definidos para o Ensaio de Mistura Binária: CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]; CYN [100 µg/L] +PFOA [2000 µg/L]; CYN [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L] e os controles. Concentração inicial de células igual a 1,58 x 10^4 células por mL.



Figura 4.18 Disposição do Ensaio de Mistura Binária montado na sala de cultivo do LSA-UnB, nas condições definidas pela na norma NBR 12.648 de 2018, dia 13 de janeiro de 2023 e mantido por 96 horas.

4.5. FIM DA EXPOSIÇÃO E CONTAGEM DE CÉLULAS

Ao final do período de exposição de 96h de cada ensaio, amostras foram retiradas de cada tratamento para a contagem de células e análise dos dados. Retirou-se 1 mL de cada recipiente teste e controles, e adicionou-se a um frasco Eppendorff com o auxílio do pipetador automático Pipetman, da marca Gilson de precisão de 100 a 1000 µL. Para a preservação da amostra, adicionou-se 50 µL de Lugol a cada Eppendorff.

O efeito toxico é determinado pela inibição do crescimento da biomassa algácea nos recipientes testes, comparando com o controle sob as mesmas condições de ensaio. Após realizados os experimentos foram efetuadas as contagens das amostras, seguindo o protocolo descrito no item 4.4.4. Como as amostras foram diluídas com o lugol, multiplicou-se o resultado das contagens por 1,05.

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para análise de dados e determinação dos efeitos dos tratamentos na multiplicação das microalgas, foram utilizados métodos estatísticos. Os resultados foram organizados no

software Excel, onde foram calculadas as concentrações de células das amostras, além das medidas estatísticas de posição, médias e de dispersão, variância, desvio padrão e erro padrão. Além disso, foram realizadas as demais análises estatísticas no software GraphPad Prism 8.

Primeiramente, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, em que se verificou que os dados são semelhantes a uma distribuição normal. Prosseguiu-se para a análise ANOVA (Análise de Variância), que é um método estatístico usado para determinar se há diferença significativa entre as médias dos diferentes grupos. Por fim, realizou-se o Test-T, para comparar se a média de cada triplicata é significativamente diferente em relação ao controle. A diferença estatística significativa foi determinada com $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. ENSAIO DE SENSIBILIDADE COM SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA

O ensaio de sensibilidade com Sulfato de Zinco Heptahidratado ($ZnSO_4.7H_2O$) mostrou que o organismo-teste, a microalga *Monoraphidium capricornutum* apresenta sensibilidade a substância. Quanto maior a concentração de $ZnSO_4.7H_2O$, maior a inibição no crescimento das microalgas, de acordo com o ilustrado na Figura 5.1.

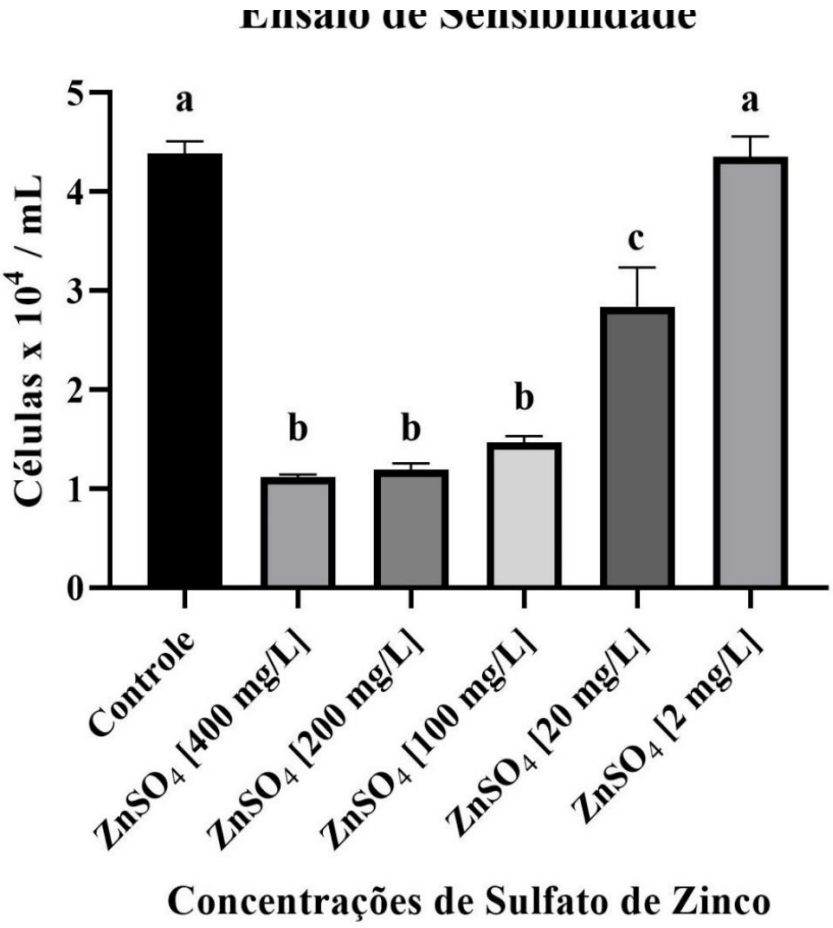


Figura 5.1 Resultado do Ensaio de Sensibilidade ao Sulfato de Zinco. A densidade de *Monoraphidium capricornutum* no início do ensaio era de 1,29 x 10^4 células por mL. A duração do ensaio foi de 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: 400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, 20 mg/L e 2 mg/L de $ZnSO_4.7H_2O$. As letras diferentes indicam diferença significativa, $p< 0,005$.

Foi realizada análise estatística ANOVA (Análise de Variância), no software GraphPad Prism 8, os resultados estão registrados na Tabela 5.1. Com essa análise, concluiu que entre as concentrações 400 mg/L, 200 mg/L, 100 mg/L, não houve diferença significativa

na resposta das algas, mas houve diferença em relação ao controle, na concentração de 20 mg/L, também houve diferença em relação ao controle e na concentração de 2 mg/L, não houve diferença em relação ao controle.

Tabela 5.1 Resultados das análises estatísticas no GraphPad Prism 8 do Ensaio de Sensibilidade.

Amostras Comparadas	Diferença	Significante?	Intensidade	P Valor
Controle vs. $ZnSO_4$ [400 mg/L]	3,27	Sim	****	<0.0001
Controle vs. $ZnSO_4$ [200 mg/L]	3,197	Sim	****	<0.0001
Controle vs. $ZnSO_4$ [100 mg/L]	2,92	Sim	****	<0.0001
Controle vs. $ZnSO_4$ [20 mg/L]	1,547	Sim	****	<0.0001
Controle vs. $ZnSO_4$ [2 mg/L]	0,03667	Não	ns	0,9998
$ZnSO_4$ [400 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [200 mg/L]	-0,07333	Não	ns	0,9912
$ZnSO_4$ [400 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [100 mg/L]	-0,35	Não	ns	0,1586
$ZnSO_4$ [400 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [20 mg/L]	-1,723	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [400 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [2 mg/L]	-3,233	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [200 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [100 mg/L]	-0,2767	Não	ns	0,3427
$ZnSO_4$ [200 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [20 mg/L]	-1,65	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [200 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [2 mg/L]	-3,16	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [100 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [20 mg/L]	-1,373	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [100 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [2 mg/L]	-2,883	Sim	****	<0.0001
$ZnSO_4$ [20 mg/L] vs. $ZnSO_4$ [2 mg/L]	-1,51	Sim	****	<0.0001

5.2. ENSAIO PRELIMINAR

O ensaio preliminar foi realizado para definição da faixa de toxicidade a ser analisada nos ensaios definitivos. Foi observado com o ensaio que PFOA apresentou pouco efeito sobre o crescimento da microalga nas diferentes concentrações, onde somente na maior concentração foi verificada uma redução um pouco mais perceptível no número de células em relação ao controle (redução de 12 %). Já o Efluente Final da ETE, na maior diluição (50%), causou grande inibição no crescimento da espécie-teste e em baixas concentrações pode ter atuado como fonte de nutrientes, pois incentivou o crescimento. Observou-se que as cianotoxinas parecem impactar mais as microalgas em concentrações acima de 50 μg/L, conforme o ilustrado na Figura 5.2. Porém, como não existem tréplicas, de acordo com o definido pela norma NBR 12.648 de 2018, não foi possível realizar análises estatísticas precisas.

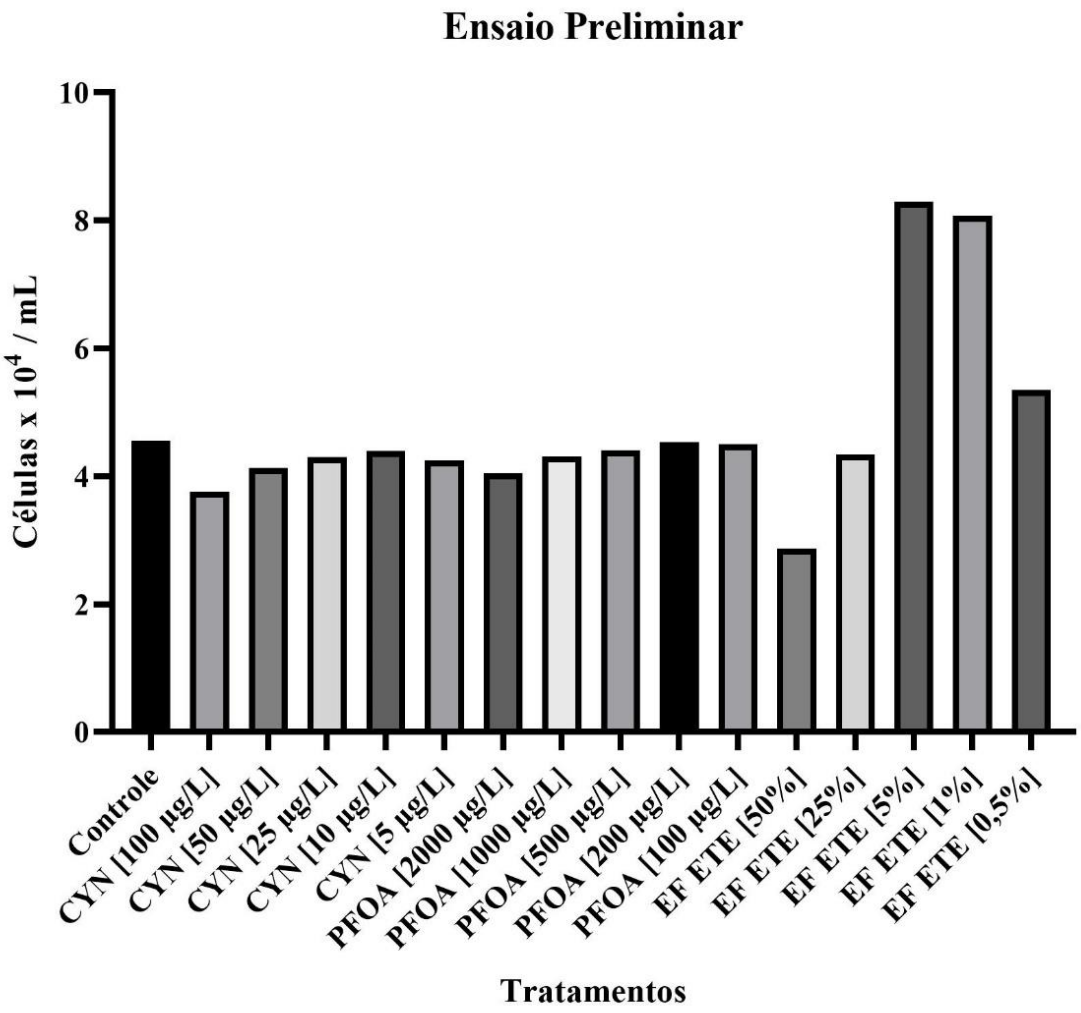


Figura 5.2 Resultado do Ensaio Preliminar. A densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* foi de 1,45 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta às concentrações: Cianotoxina - Cilindropermopsina (100 µg/L, 50 µg/L, 25 µg/L, 10 µg/L e 5 µg/L), PFOA (2000 µg/L, 1000 µg/L, 500 µg/L, 200 µg/L e 100 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (50%, 25%, 5%, 1% e 0,5%).

5.3. ENSAIO DEFINITIVO

Para avaliação dos resultados do ensaio definitivo, onde as concentrações testadas foram definidas com base nos resultados obtidos de inibição de crescimento do teste preliminar, foi calculada a concentração ou porcentagem de inibição da multiplicação das células de microalgas com o valor da média do número de células do controle e a média do número de células de cada concentração ou diluição dos tratamentos testados, de acordo com a Equação 5-1, fornecida pela norma NBR 12.648 de 2018 e os resultados estão registrados na Tabela 5.2 e na Figura 5.3.

$$Ci = \frac{Média\ Controle - Média\ Teste}{Média\ Controle}\ x\ 100 \quad (5\text{-}1)$$

O crescimento das microalgas foi reduzido de forma significativa, de acordo com a avaliação estatística ANOVA realizada no software GraphPad Prism 8, por todos os tratamentos nas suas concentrações ou diluições, conforme o observado pela Tabela 5.2 e pelas Figuras 5.3, 5.4 e. O extrato contento cilindrospermopsina foi tóxico às microalgas na concentração de 100 µg/L, causando uma inibição de crescimento de 24,5%, e na concentração de 50 µg/L causando uma inibição de 16,5%, conforme o registrado na Figura 5.3.

Quanto aos PFOA, se mostrou prejudicial ao crescimento da espécie-teste em altas concentrações, acima de 1,0 mg/L, as quais só devem ocorrer em caso de acidentes, conforme o encontrado na literatura (Hu, 2020). Na concentração de 2000 µg/L, ocorreu uma inibição de crescimento de 20,3% e na concentração de 1000 µg/L, uma inibição de 12,1%, conforme o registrado na Figura 5.3.

O resultado de maior destaque foi o da amostra com o Efluente Final da ETE Paranoá que causou uma inibição de 68,7% no crescimento das microalgas na diluição de 65%, e de 42,9% na diluição de 25%. Então, foi completamente prejudicial a sobrevivência das microalgas, o que indica que devem existir diversos contaminantes no efluente.

Após a realização das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8, verificou-se que todos os tratamentos foram significativamente diferentes do controle. Porém, entre as concentrações testadas de cianotoxinas não houve diferença significativa e PFOA também não, já do Efluente houve, conforme os resultados da Figura 5.3 e Tabela 5.3.

Tabela 5.2 Resultados Obtidos no Ensaio Definitivo realizado no dia 06 de janeiro de 2023.

Ensaio Definitivo (06/01/2023)						
Tratamento	Células 10^4 / mL	Média Aritmética	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão	Percentual de Inibição
Controle 1	5,05	5,18	0,021	0,144	0,083	0,0
Controle 2	5,38					
Controle 3	5,10					
CYN D1.1 - [100 µg/L]	3,77	3,91	0,010	0,099	0,057	24,5
CYN D1.2 - [100 µg/L]	4,00					
CYN D1.3 - [100 µg/L]	3,95					
CYN D2.1. - [50 µg/L]	4,28	4,33	0,002	0,050	0,029	16,5
CYN D2.2. - [50 µg/L]	4,30					
CYN D2.3. - [50 µg/L]	4,40					
PFOA D1.1. - [2000 µg/L]	3,97	4,13	0,020	0,142	0,082	20,3
PFOA D1.2. - [2000 µg/L]	4,10					
PFOA D1.3. - [2000 µg/L]	4,31					
PFOA D2.1. - [1000 µg/L]	4,61	4,55	0,005	0,074	0,043	12,1
PFOA D2.2. - [1000 µg/L]	4,45					
PFOA D2.3. - [1000 µg/L]	4,59					
Efluente Final D1.1. - [65%]	1,33	1,62	0,054	0,231	0,134	68,7
Efluente Final D1.2. - [65%]	1,89					
Efluente Final D1.3. - [65%]	1,64					
Efluente Final D2.1. - [25%]	2,85	2,96	0,015	0,124	0,072	42,9
Efluente Final D2.2. - [25%]	3,13					
Efluente Final D2.2. - [25%]	2,89					

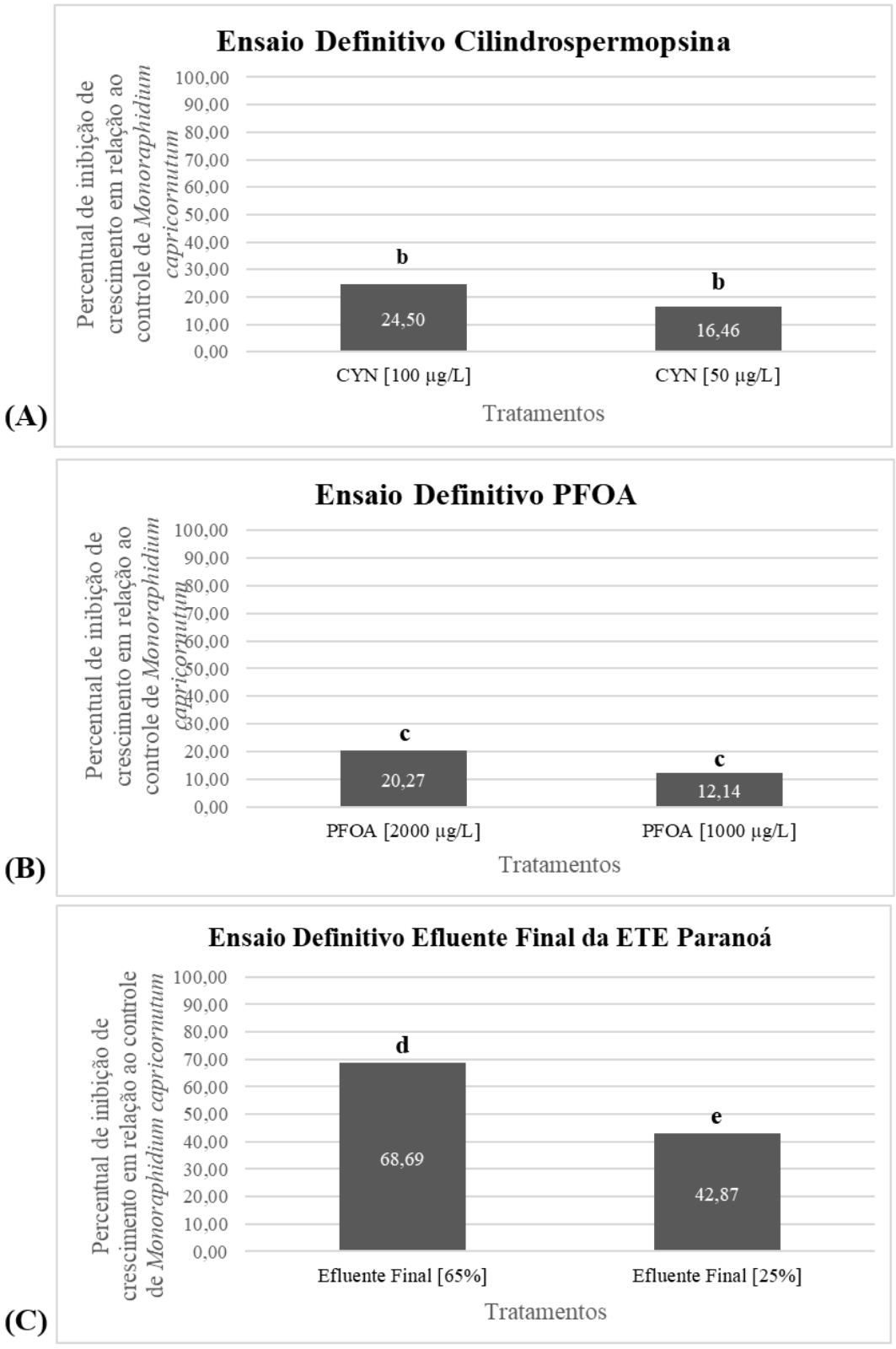


Figura 5.3. Porcentagens de Inibição no Crescimento de *Monoraphidium capricornutum* quando expostas por 96 horas a (A) [100 µg/L] e [50 µg/L] de CYN, (B) [2000 µg/L] e [1000 µg/L] de PFOA e (C) [65%] e [25%] de Efluente Final da ETE Paranoá. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p < 0{,}005$.

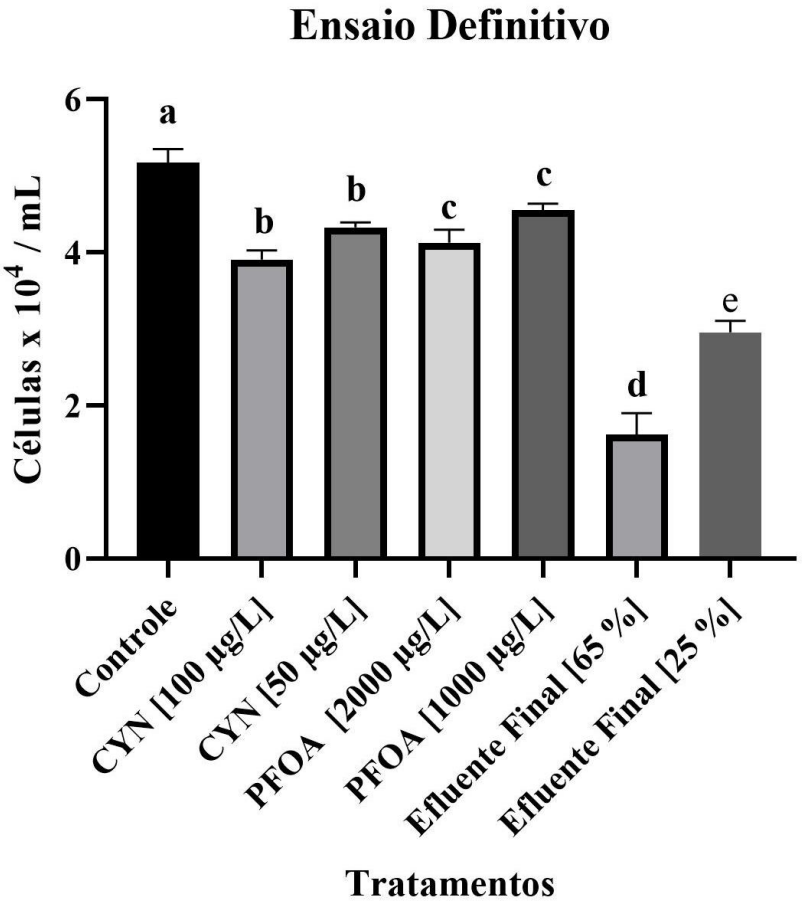


Figura 5.4- Resultado do Ensaio Definitivo. A densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* foi de 1,45 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: CYN (100 µg/L e 50 µg/L), PFOA (2000 µg/L e 1000 µg/L) e Efluente Final da ETE Paranoá (65% e 25%).

Tabela 5.3 Resultados das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8 do Ensaio Definitivo.

Amostras Comparadas	Diferença	Significante?	Intensidade	P Valor
Controle vs CYN [100 µg/L]	1,27	Sim	****	<0.0001
Controle vs CYN 50 µg/L]	0,85	Sim	***	0,00
Controle vs PFOA [2000 µg/L]	1,05	Sim	****	<0.0001
Controle vs PFOA [1000 µg/L]	0,63	Sim	**	0,01
Controle vs Efluente Final [65 %]	3,56	Sim	****	<0.0001
Controle vs Efluente Final [25 %]	2,22	Sim	****	<0.0001
CYN [100 µg/L] vs CYN [50 µg/L]	-0,42	Não	ns	0,08
PFOA [2000 µg/L] vs. PFOA [1000 µg/L]	-0,42	Não	ns	0,08
Efluente Final [65 %] vs. Efluente Final [25 %]	-1,34	Sim	****	<0.0001

O Efluente Final da ETE Paranoá foi analisado pela Sarah Brito, mestranda do PTARH, e os parâmetros medidos *in loco* em laboratório da amostra coletada, estão registrados na Tabela 5.4. De acordo com o artigo 21, da Resolução CONAMA 430 de 2011, para o lançamento direto de efluentes oriundos de sistemas de tratamento de esgotos sanitários deverão ser obedecidas as seguintes condições: pH entre 5 e 9, temperatura inferior a 40°C, sendo que a variação de temperatura do corpo receptor não deverá exceder a 3°C na zona de mistura, materiais sedimentáveis até 1 mL/L, DBO 5 dias, 20°C, máximo de 120 mg/L, substâncias solúveis em hexano (óleos e graxas) até 100 mg/L e ausência de materiais flutuantes. Dessa forma, mais parâmetros devem ser analisados.

Tabela 5.4 Parâmetros medidos in loco em laboratório da amostra coletada do Efluente da ETE Paranoá, no dia 06 de setembro de 2022.

Características da Amostra coletada do Efluente Final da ETE Paranoá	
Sólidos totais em suspensão (mg/L)	5,85
DQO Bruta (mg/L)	387
DQO Filtrada (mg/L)	156
Clorofila-a (µg/L)	892,59
Fósforo total (mg/L)	60
pH	7,56
Turbidez (NTU)	255
Condutividade (µS/cm)	811
Temperatura (ºC)	27,7

Além disso, de acordo com o artigo 12 da Resolução CONAMA 430 de 2011, o lançamento de efluentes em corpos de água, não pode exceder as condições e padrões de qualidade de água estabelecidos para as respectivas classes, nas condições da vazão de referência ou volume disponível. Ou seja, estudos devem ser realizados na zona de mistura, para verificação se após o lançamento de um efluente com essas características os padrões da classe 3, registrados no item 3.4.1 do presente documento são respeitados.

De acordo com informação fornecida pela ADASA, registrada na Tabela 5.5, referente às análises realizadas em novembro de 2022, na rede de monitoramento da qualidade das águas superficiais do DF na estação ETE Paranoá Montante, logo anterior ao ponto de lançamento do efluente da ETE Paranoá, os valores obtidos para Fosforo, Nitrogênio e Sólidos totais eram inferiores ao registrado na estação a jusante do lançamento, o que

indica um aporte de nutrientes ao corpo hídrico. Portanto, é de suma importância monitorar a qualidade do efluente final da ETE Paranoá, que é disposto no Rio Paranoá.

Tabela 5.5. Dados de Novembro de 2022 das Estações de Monitoramento de Qualidade da Água, ETE Paranoá Montante e Jusante, de reponsabilidade da ADASA.

Ponto de Monitoramento	Fósforo Total (mg/L)	Nitrogênio Total (mg/L)	Sólidos Totais (mg/L)
ETE Paranoá Montante	0,020	0,85	42
ETE Paranoá Jusante	0,026	1,77	69

5.4. ENSAIO DE MISTURA BINÁRIA

O efeito da mistura entre cililindrospmopsina e PFOA inibiu o crescimento da microalga em relação ao controle, em todas as combinações, conforme o calculado com a Equação 5.1 e registrado na Tabela 5.6. Após a realização das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8, verificou-se, que todos os tratamentos foram significativamente diferentes do controle. Porém, na concentração de PFOA igual a 2000 µg/L, combinado com cianotoxina na concentração de 100 µg/L e 50 µg/L, não houve diferença significativa entre eles. Além disso, os asteriscos (*) da quarta coluna da tabela 5.7 indicam a intensidade da diferença e verificou-se que na concentração de PFOA igual a 2000 µg/L, combinado com cilinsdrospermopsina na concentração de 100 µg/L e de 50 µg/L, a diferença com o controle não foi tão significativa, só existe um asterisco, conforme os resultados da Tabela 5.7. e as Figuras 5.5 e 5.6.

Tabela 5.6 Resultados Obtidos no Ensaio de Mistura Binária realizado no dia 13 de janeiro de 2023.

Ensaio de Mistura Binária (13/01/2023)						
Tratamento	Células x 10^4 / mL	Média Aritmética	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão	Percentual de Inibição
Controle 1	3,97	4,48	0,137	0,370	0,213	0,0
Controle 2	4,66					
Controle 3	4,82					
1- CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]	2,79	2,85	0,011	0,105	0,060	36,3
2 - CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]	3,00					

Ensaio de Mistura Binária (13/01/2023)						
Tratamento	Células x 10^4 / mL	Média Aritmética	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão	Percentual de Inibição
3 - CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]	2,77					
1 - CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	3,40	3,66	0,038	0,195	0,113	18,3
2 - CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	3,86					
3 - CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	3,74					
1 - CYN [50 µg/L] - PFOA [2000 µg/L]	2,89	3,23	0,065	0,255	0,147	27,9
2 - CYN [50 µg/L] - PFOA [2000 µg/L]	3,49					
3 - CYN [50 µg/L] - PFOA [2000 µg/L]	3,31					

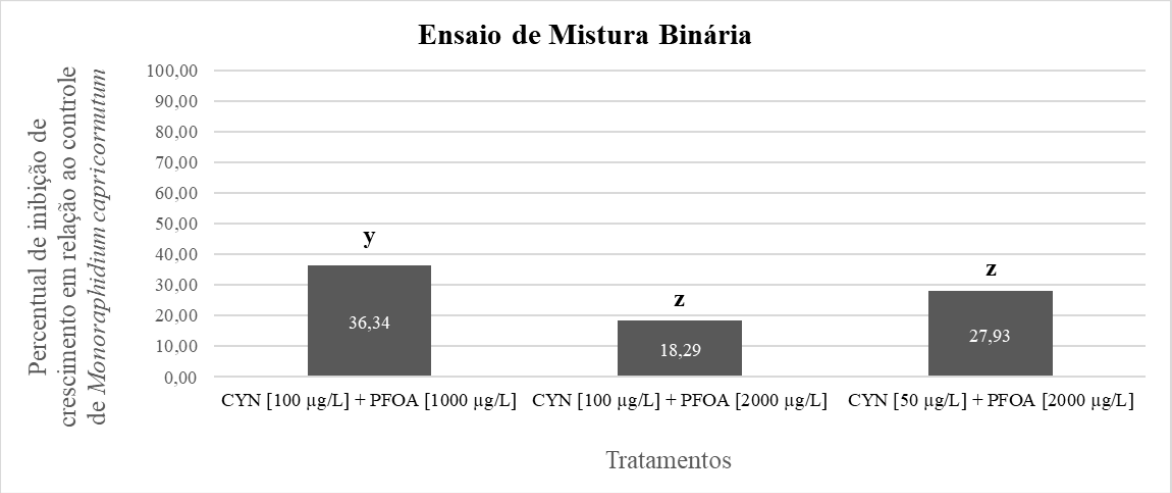


Figura 5.5 Porcentagens de Inibição no Crescimento das microalgas *Monoraphidium capricornutum* quando expostas, por 96 horas a: i) CYN [100 µg/L], PFOA [1000 µg/L]; ii) CYN [100 µg/L], PFOA [2000 µg/L]; iii) CYN [50 µg/L], PFOA [2000 µg/L]. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p < 0,005$.

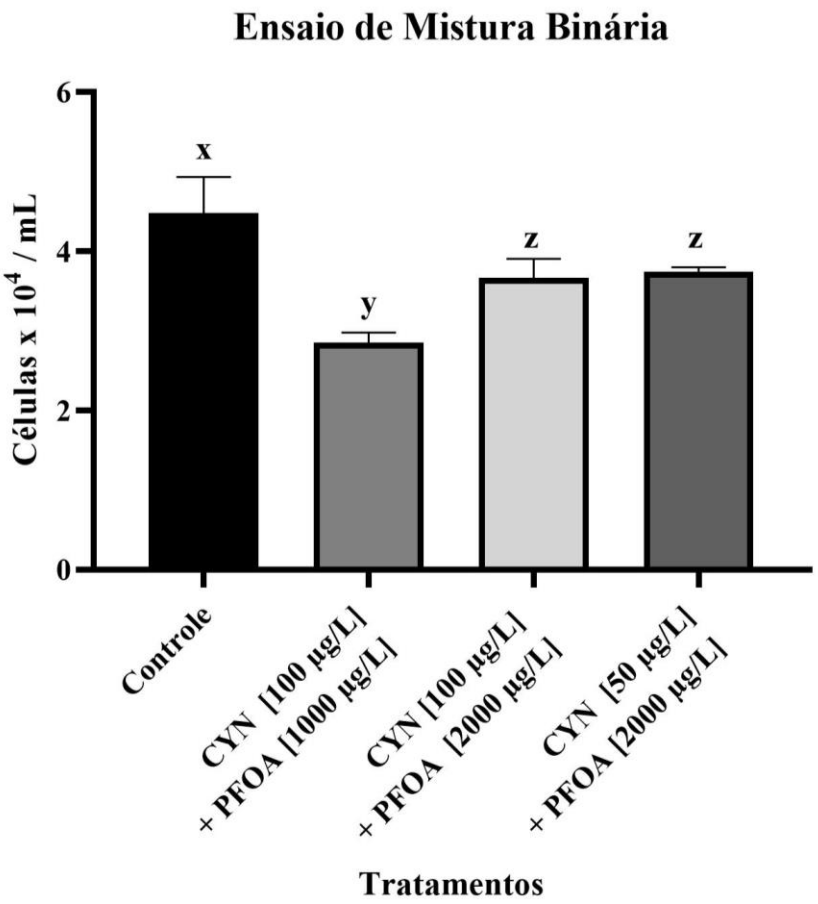


Figura 5.6 Resultado do Ensaio de Mistura Binária, a densidade inicial de *Monoraphidium capricornutum* era de 1,58 x 10^4 células/mL, a duração do ensaio foi 96 horas e a espécie-teste foi exposta as concentrações: CYN [100 µg/L], PFOA [1000 µg/L]; CYN [100 µg/L], PFOA [2000 µg/L]; CYN [50 µg/L], PFOA [2000 µg/L]. As letras diferentes em cada tratamento indicam diferença significativa, $p< 0,005$.

Tabela 5.7 Resultados das análises estatísticas ANOVA no GraphPad Prism 8 do Ensaio de Mistura Binária.

Amostras Comparadas	Diferença	Significante?	Intensidade	P Valor
Controle vs. CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L]	1,63	Sim	***	0,0003
Controle vs. CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	0,8167	Sim	*	0,0225
Controle vs. CYN [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	0,7367	Sim	*	0,0374
CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L] vs CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	-0,8133	Sim	*	0,0229
CYN [100 µg/L] + PFOA [1000 µg/L] vs CYN [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	-0,8933	Sim	*	0,0139
CYN [100 µg/L] + PFOA [2000 µg/L] vs CYN [50 µg/L] + PFOA [2000 µg/L]	-0,0800	Não	ns	0,9815

De acordo com o observado nos resultados dos ensaios de misturas binárias a maior inibição foi registrada na mistura em que a concentração de cilindrospermopsina era mais alta, 100 µg/L e PFOA mais baixa, 1000 µg/L. Constatou-se que sempre que PFOA está na concentração mais elevada, o crescimento é menos afetado. O PFOA, como mencionado, é um poluente orgânico persistente e muito encontrado em ambientes aquáticos. No entanto, pouco se sabe sobre a sua toxicidade para as microalgas ou sobre os mecanismos de adaptação a ele (Hu, 2020).

No cenário em que ambas as concentrações eram mais altas, 100 µg/L de CYN e 20000 µg/L de PFOA pode ter ocorrido um efeito antagônico, ou seja, o PFOA pode ter atuado como uma forma de proteção às CYN, interferindo no seu efeito. Metcalf e Codd (2020), apresentam uma revisão dos dados da literatura que indicam que diferentes poluentes em co-ocorrência com cianotoxinas podem exercer efeitos aditivos, sinergísticos e antagônicos. Os dados do presente trabalho sobre PFOA + CYN mostram que mais investigações devem ser feitas para ser entender esses mecanismos, uma vez que os contaminantes aquáticos nunca estão presentes sozinhos, especialmente em efluentes de águas residuárias.

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES GERAIS

De acordo com os experimentos realizados e resultados obtidos, verificou-se que o Efluente Final da ETE Paranoá pode apresentar um dano potencial ao meio ambiente. As Lagoas de Estabilização são uma boa forma de tratamento em países tropicais. Porém, a eficiência do tratamento desta ETE estudada não foi observada, possivelmente a estação está subdimensionada ou com problemas operacionais.

O efluente final da ETE Paranoá em uma diluição de 65%, causa uma inibição de quase 70%, no crescimento da microalga clorofícea *Monoraphidium capricornutum.* Tal resultado indica que outras espécies da comunidade fitoplanctônica tem potencial para serem similarmente afetadas, o que indica grande risco ao ecossistema. Um efluente tratado não poderia causar esta inibição tão alta, o que abre a necessidade da realização de novas análises e estudos, da caracterização de quais contaminantes existem neste efluente. Além de análises com outras espécies de microalgas e animais de outros níveis tróficos, como zooplâncton e peixes.

Apesar do rio Paranoá, de acordo com o enquadramento da Resolução do CONAMA nº 357 de 2005, ser Classe 3, e não ser permitido o contato primário, existe grande chance deste contato existir por parte dos moradores próximos ao local. Grande parte dos rios e lagos do DF são utilizados para balneabilidade, banho e atividades esportivas, o que representa um grande risco sanitário a estas pessoas. Além disso, de acordo com Relatório do Instituto Brasília Ambiental, em 2016, milhares de peixes do rio Paranoá, DF, morreram (IBRAM, 2016), o que ilustra a qualidade deficiente do efluente tratado da ETE, além de dificultar a pesca amadora permitida em corpos hídricos de Classe 3.

Outrossim, a vazão do córrego que recebe o fluente da ETE Paranoá é muito baixa e em visita ao local constatou-se visualmente que a qualidade deste corpo hídrico é muito inferior ao ideal. Quando o córrego deságua no rio Paranoá a situação não melhora muito, o Rio também possui baixa vazão e quando a barragem do Lago Paranoá tem a vazão das comportas reduzidas a situação se agrava. Dessa forma, é essencial que a CAESB reduza o volume do esgoto lançado e a CEB a quantidade de água utilizada, nessas situações críticas. Além de que deve ocorrer a devida fiscalização e controle por parte da ADASA.

Ademais, as cianotoxinas cilindrospermopsina, também causaram uma inibição de 25% no crescimento das microalgas em grandes concentrações, alertando para o perigo das florações de cianobactérias para comunidade fitoplantônica e consequentemente, para os demais níveis tróficos. Sarah Brito, mestranda do PTARH- UnB, já identificou a presença de cianobactérias nas lagoas, no efluente final da ETE Paranoá e no ponto de lançamento no corpo hídrico desde 2022 e, no momento está processando amostras para análise de cianotoxinas. Portanto, também é possível que essas substâncias estivessem presente do efluente testado nesse trabalho.

Por fim, os contaminantes emergentes, como PFOA, são um problema devido à dificuldade de remoção e tratamento, e impactam na comunidade biológica aquática. Mais estudos devem ser realizados para a melhor compreensão do funcionamento e impactos dos PFAs. Como mencionado, os ensaios ecotoxicológicos são muito importantes para o entendimento da relação entre os poluentes e a biota aquática, além de alertar para potenciais riscos como o da eficiência da ETE Paranoá, DF.

6. CONCLUSÕES

6.1. CONCLUSÃO GERAL

Após avaliar os efeitos tóxicos específicos e da mistura binária de cianotoxina cilindrospermopsina e polifluoroalquilados do tipo PFOA, assim como os efeitos do efluente final das lagoas de estabilização da ETE Paranoá, na microalga *Monoraphidium capricornutum*, através de ensaios de toxicidade crônicos, percebeu-se que todas as diluições analisadas, impactam no crescimento da microalga.

6.2. CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

- Após avaliar os efeitos de diferentes concentrações do efluente final da lagoa de estabilização da ETE Paranoá, do Distrito Federal, no crescimento de *Monoraphidium capricornutum,* comprovou-se que o efluente impacta em grande escala o desenvolvimento da microalga e devem existir diversos poluentes e contaminantes resistentes ao tratamento de esgotos.
- Após avaliar os efeitos de diferentes concentrações de extrato tóxico contendo CYN, no crescimento de *Monoraphidium capricornutum,* percebeu-se que nas concentrações de 100 µg/L e 50 µg/L ocorre inibição no crescimento da clorofícea.
- Após avaliar os efeitos de diferentes concentrações de PFOA, no crescimento de *Monoraphidium capricornutum*, verificou-se que concentrações de 2000 µg/L e 1000 µg/L também ocorre inibição no crescimento da microalga.
- Após avaliar os efeitos de diferentes concentrações de mistura binária de extrato de CYN e PFOA, no crescimento de *Monoraphidium capricornutum,* percebeu-se que ocorre inibição no crescimento da clorofícea, porém mais estudos devem ser realizados para compreensão dos efeitos combinados entre estas substâncias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira De Normas Técnicas. (2018) “NBR 12.648 Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - Método de ensaio com algas (*Chlophyceae*).” Rio de Janeiro, RJ. 2ª edição. 25 p.

ADASA - Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico do Distrito Federal. (2011). “Plano de Gerenciamento Integrado de Recursos Hídricos do Distrito Federal - PGIRH.” Brasília, DF, Brasil.

ADASA – Agência Reguladora de Águas e Saneamento do Distrito Federal. (2022). “Sistema de tratamento de esgoto sanitário”. Disponível em: <https://www.ADASA.df.gov.br/17-pagina/562-sistema-de-esgotamento-sanitario>. Acesso em 20 de junho de 2022.

ADASA – Agência Reguladora de Águas e Saneamento do Distrito Federal. (2016). “Bacias do DF”. Disponível em: <http://cobranca-rh-df.adasa.df.gov.br/page7.html>. Acesso em 18 de agosto de 2022.

ADASA – Agência Reguladora de Águas e Saneamento do Distrito Federal. (2017). “Crise Hídrica no DF e suas causas”. Disponível em: <https://www.adasa.df.gov.br/central-de-conteudo/artigos/central-de-conteudo/artigos/643-a-crise-hidrica-no-distrito-federal-e-suas-causas>. Acesso em 20 de agosto de 2022.

ADASA – Agência Reguladora de Águas e Saneamento do Distrito Federal. (2022). “Sistema de Informações sobre Recursos Hídricos - DF”. Disponível em: <https://app.powerbi. com/view?r=eyJrIjoiZjMyN2NmYjgtY2Uy>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.

ANA – Agência Nacional das Águas e Saneamento Básico (2020). “Encarte enquadramento dos corpos d’água em classes”. Brasília, DF, Brasil.

ANA – Agência Nacional das Águas e Saneamento Básico (2020). “Monitoramento da Qualidade da água em Rios e Reservatórios - Bases Conceituais para monitoramento de águas continentais”. Brasília, DF, Brasil.

ANA – Agência Nacional das Águas e Saneamento Básico (2019). “Usos da água” Disponível em: <https://www.gov.br/ana/pt-br/assuntos/gestao-das-aguas/usos-da-agua>. Acesso em 20 de setembro de 2022.

ANA – Agência Nacional das Águas e Saneamento Básico (2013). “Indicadores de Qualidade – Índice de Estado Trófico” Disponível em: <http://pnqa.ana.gov.br/indicadores-estado-trofico.aspx>. Acesso em 20 de janeiro de 2023.

Andersen, R.A. ; Kawachi, M. (2005). “Traditional microalgae isolation techniques. Algal Culturing Techniques.” Academic Press. 1st ed.

Aragão, M. A.; Araújo, R. P. A. (2006). “Ecotoxicologia aquática – Princípios e Aplicações.” In:Métodos de Ensaios de Toxicidade com Organismos Aquáticos. ZAGATTO, P. A. & BERTOLETTI, E. São Carlos: RiMa, 2006. p. 117-147.

Azevedo, F. A.; Chasin, A. M. (2004). “As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia”. RiMa Editora e InterTox. 322 p.

Azevedo Netto, J. M. (1975). “Lagoas de estabilização.” São Paulo, CETESB, 241 p.

Azevedo, S. M. F. O. (1998). “Toxinas de Cianobactérias: Causas e consequências para a Saúde Pública”. MED On Line. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais – CCS – UFRJ.

Biggs, B.J., Nikora, V.I. and Snelder, T.H. (2005). “Linking scales of flow variability to lotic ecosystem structure and function. River Research and Applications” National Institute of Water and Atmospheric Research Ltd, New Zealand. Wiley InterScience, 21(2-3), pp.283-298.

Bittencourt-Oliveira, M.C.; Piccin-Santos, V.; Moura, A.N.; Aragão-Tavares, N.K.C.; Cordeiro-Araújo, M.K. (2014). “Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil.” An Acad Bras Cienc., 86(1): 297-309.

Bicudo, C. E. M.; Tundisi, J. G.; Scheuenstuhl, M. C. B. (2010). “Águas do Brasil - Análises Estratégicas”. Academia Brasileira de Ciências. Instituto de Botânica, São Paulo. 204 p.

Borghetti, N. R. B.; Borghetti, J. R.; Rosa Filho, E. F. (2004). “Aquífero Guarani: a verdadeira integração dos países do Mercosul”. Curitiba, 214 p.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. (2005). “Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005”. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

BRASIL. (1997). “Lei Federal 9.433, de 8 de janeiro de 1997” - Política Nacional de Recursos Hídricos. Brasília, DF.

BRASIL. (2007). “Lei Federal 11.445, de 5 de janeiro de 2007” - Diretrizes nacionais para o saneamento básico. Brasília, DF.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. (2006). “Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano”. Brasília, 212p.

Buratti, F.M.; Manganelli, M.; Vichi, S.; Stefanelli, M.; Scardala, S.; Testai, E.; Funari, E. (2017). “Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation.” Arch Toxicol., 91(3):1049-1130.

Campos, A., Araújo, P., Pinheiro, C., Azevedo, J., Osório, H. & Vasconcelos, V. (2013). “Effects on growth, antioxidant enzyme activity and levels of extracellular proteins in the green alga Chlorella vulgaris exposed to crude cyanobacterial extracts and pure microcystin and cylindrospermopsin. Ecotoxicology and Environmental Safety.” 94: 45-53.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. (2013). “Manual de Cianobactérias Planctônicas: Legislação, Orientações para o Monitoramento e Aspectos Ambientais”. Diretoria de Engenharia e Qualidade Ambiental, São Paulo.

CODEPLAN, Companhia de Planejamento do Distrito Federal (2019). “Projeções populacionais para as regiões administrativas do Distrito Federal 2010-2020”. Brasília, DF, 10 p.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2005). “Resolução 357, de 17 de março de 2005” - Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. Ministério do Meio Ambiente.

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. (2011). “Resolução 430, de 13 de maio de 2011 - Condições e padrões de lançamento de efluentes.” Ministério do Meio Ambiente.

Costa, C.R.; Olivi, P.; Botta, C.M.R.; Espindola, E.L.G. (2008). “A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação.” Química Nova, v. 31, n. 7, p. 1820-1830.

Chernicharo, C. A. L. (2016) “Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Volume 5: Reatores Anaeróbios.” 2a. edição. DESA -Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental/UFMG, Minas Gerais.

Chorus, I.; Welker, M. (2021). “Toxic cyanobacteria in water, a guide to their public health: Consequences, monitoring and management”. 2nd ed. Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York, 1-12.

D'alessandro, E. B.; Nogueira, I. S.; Hoffmann, N. K. S. A. (2020). “Variability in phytoplankton community structure and influence on stabilization pond functioning”. Laboratório de Métodos de Extração e Separação. Universidade Federal de Goiás (UFG). ISSN 1980-993X – doi:10.4136/1980-993X.

De Philippis R.; Vincenzini M. (1998).” Exocellular polysaccharides from cyanobac-teria and their possible applications.” FEMS Microbiol Rev. 22:151–175.

Dias, J. B.; Huszar, V. L. M. (2011). “O papel dos traços funcionais Na Ecologia do fitoplâncton continental”. Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Departamento de Botânica. 15(4): 799-834.

Ducat, D. C.; Way, J. C.; Silver, P. A. “Engineering cyanobacteria to generate high-value products.” Trends in Biotechnology, v. 29(2), p. 95–103, 2011

Esteves, F.A. (2011). “Fundamentos de Limnologia”, 3th ed. Editora Interciência, Rio de Janeiro, RJ, 826p.

EPA – United States Environmental Protection Agency (2019) “EPA’s Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Action Plan” www.epa.gov/pfas

Ferrão-Filho, A.; Suzuki, B. K. (2011). “Cyanotoxins: Bioaccumulation and Effects on Aquatic Animals.”. Laboratory of Evaluation and Promotion of Environmental Health, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Av. Brasil 4365, Manguinhos, Rio de Janeiro.

Finlay, B.J. (2002). “Global Dispersal of Free-Living Microbial Eukaryote Species”. Science, 296: 1061-1063, http://dx.doi.org/10.1126/science.1070710

Gagliano, E.; Sgroi, M.; Falciglia P.P.; Vagliasindi, F. G. A.; Roccaro, P. (2020). “Removal of poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) from water by adsorption: Role of PFAS chain length, effect of organic matter and challenges in adsorbent regeneration.” Department of Civil Engineering and Architecture, University of Catania, Italy.

Gibson, C.E.; Smith, R.V. (1982). “Freshwater Plankton”. The Biology of Cyanobacteria, Blackwell Scientific Publications, London, 463-490.

Gosset, A. (2018). “Evaluation de l’écotoxicité des Rejets Urbains par Temps de Pluie : Développement d’une batterie de bioessais et application à la conception de biocapteurs”. Thèse de Doctorat de l’Université de Lyon. L’Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.

Guillard, R. R. L. (1973). “Division rates. In: Stein, J. R., ed. Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements.” Cambridge University Press, Cambridge, pp. 289–311.

Hu, Y; Meng, F; Hu, Y; Habibul, N; Shenga, G. (2020). “Concentration- and nutrient-dependent cellular responses of microalgae Chlorella pyrenoidosa to

perfluorooctanoic acid." CAS Key Laboratory of Urban Pollutant Conversion, Department of Applied Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei, 230026. Journal of Hazardous Materials 185 116248.

Huisman, J.; Codd, G.A.; Paerl, H.W.; Ibelings, B.W.; Verspagen, J.M.; Visser, P.M. (2018). "Cyanobacterial blooms." Nat Rev Microbiol. 16:471.483

Humpage A.R.; Falconer I.R.; (2003). "Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value." Environ Toxicol. 12635097.

Ibelings, B.W.; Vonk M.; Los, H. F. J.; Van Der Molen, D. T.; Mooij, W. M. (2003). "Fuzzy model-ing of cyanobacterial surface waterblooms". Ecol Appl. 13:1456–1472.

Janssen, C. R.; Heijerick, D.G. (2003). "Algal toxicity tests for environmental risk assessments of metals." Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, New York, v. 178, p. 23-52.

Jacinavicius, F. R.; Gama Júnior, W. A.; Azevedo, M. T. P.; Sant'anna, C. L. (2013). "Manual Para Cultivo De Cianobactérias". Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo Instituto de Botânica - Núcleo de Pesquisa em Ficologia.

Li, J.; Dittrich, M. (2019). "Dynamic polyphosphate metabolism in cyanobacteria responding to phosphorus availability." Environ Microbiol. 21:572–583.

Lorz, C.; Makeschin, F.; Weiss, H. (2014). "Integrated Water Resource Management in Brazil". IWA Publishing. Alliance House. London. 134 p.

Magalhães, D. P.; Ferrão Filho, A. S. (2008). "A Ecotoxicologia como Ferramenta no Biomonitoramento de Ecossistemas Aquáticos" Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Rio de Janeiro, Brasil. Oecol. Bras., 12 (3): 355-381.

Metcalf, J. S.; Codd, G. A. (2020). “Co-Occurrence of Cyanobacteria and Cyanotoxins with other Environmental Health Hazards: Impacts and Implications.” Brains Chemistry Labs, Jackson, WY 83001, USA.

Minei, C. C. (2011). “Sensibilidade da microalga marinha *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER a diferentes substâncias químicas utilizadas como referência em ensaios ecotoxicológicos”. Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 87 p.

Miranda, D. A.; Benskin, J. P.; Awad, R.; Lepoint, G.; Leonel, J.; Hatje, V. (2021). “Bioaccumulation of Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in a tropical estuarine food web”. Science of The Total Environment. 754, 1421-46.

Miwa, A. C.; Freire, R. H. F.; Calijuri, M. C. (2007). “Nitrogen Dynamic in Waste Stabilization Ponds Systems in The Ribeira´s Valley Region (São Paulo – Brasil).” Departamento de Hidráulica e Saneamento – USP.

Nascimento, J. R. S. (2001). “Lagoas de Alta Taxa de Produção de Algas para Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios”. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 99 p.

Nascimento, M.R. (2019). “Proposta de ampliação da ETE Paranoá visando adequar o sistema de tratamento às cargas orgânicas e volumétricas afluentes”. Monografia de Projeto Final II. Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil, 75p.

Neiva, M. C. B. (2013). “Cianotoxinas e suas implicações na saúde humana”. Universidade Federal de Minas Gerais. Institudo de Biologia.

OMS e UNICEF – Organização Mundial da Saúde e Fundo das Nações Unidas para a Infância (2017). “Relatório do progresso no acesso a água potável, saneamento e higiene – 2000-2017: Foco na Desigualdade”. 140 p.

ONU – Organização das Nações Unidas (2019). “Acesso ao Saneamento Básico”. Disponível em: <https://brasil.un.org/pt-br/101526-mais-de-42-bilhoes-de-pessoas-vivem-sem-acesso-saneamento-basico> Acesso em 03 de setembro de 2022.

Paiva, R.F.P.S.; Souza, M.F.P (2018). “Association between socioeconomic, health, and primary care conditions and hospital morbidity due to waterborne diseases in Brazil” Reports in Public Health. Universidade Federal Fluminense. Av. dos Trabalhadores 420, Volta Redonda, RJ 27255-125, Brasil.

Panosso, R.; Costa, I.A.S.; Souza, N.R.; Attayde, J.R.; Cunha, R.S.R.; Gomes, F.C.F. (2007). “Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do Estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela tilápia do Nilo (Oreochromis niloticos)”. Oecol. Bras. 11(3), 443-449.

Pereira, F. S. G. (2020). “Microorganisms: classification and characteristics”. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco (IFPE).

Pessoa, C. A.; Jordão, E. P. (2017). “Tratamento de Esgotos Domésticos.” 8a. edição, ABES - Assoc. Bras. de Eng. Sanit. e Ambiental, Rio de Janeiro.

Pinheiro, C., Azevedo, J., Campos, A., Loureiro, S. & Vasconcelos, V. (2013).” Absence of negative allelopathic effects of cylindrospermopsin and microcystin-LR inselected marine and freshwater phytoplankton species.” Hydrobiologia. 705: 27-42.

Pompêo, M.L.M. (1999). “Perspectivas da limnologia no Brasil.” São Luís: Gráfica e Editora União. 191 p.

Proteau P.; Gerwick W.; Garcia-Pichel F.; Castenholz R. (1993). “The structure of scytonemin, an ultraviolet sunscreen pigment from the sheaths of cyanobacteria”. Experientia. 49:825–829.

Rebouças, A. C.; Braga, B.; Tundisi, J. G. (2006). “Águas Doces no Brasil – Capital Ecológico, Uso e Conservação”. Editora Escrituras, São Paulo. 3ª ed. 748 p.

Reynolds, C.S. (2006). “Ecology of Phytoplankton”. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 535p., http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511542145

Ricklefs, R. E. (2003). “A Economia Da Natureza” 5ta Ed. Editora Guanabara Koogan. University of Missouri – St Louis. 478p.

Sant'anna, C.L. *et al*. (2006).” Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras.” Interciência. 58 p.

Sant'anna Junior, G. L. (2010) "Tratamento Biológico de Efluentes: Fundamentos e Aplicações", Ed. Interciência, Rio de Janeiro.

Schneegurt M.A.; Sherman D.M.; Sherman L.A. (1997). "Growth, physiology, and ultrastructure of a diazotrophic cyanobacterium, Cyanothece sp. strain ATCC 51142, in mixotrophic and chemoheterotrophic cultures." J Phycol 33:632–642

Silva, S. A.; Mara, D. D. (1979). "Tratamento biológicos de águas residuárias: lagoas de estabilização." Rio de Janeiro, ABES. 140p.

Silva, A. B. (2017) "Avaliação da produção de odor na estação de tratamento de esgoto Paranoá e seus problemas associados." Dissertação de Mestrado, Publicação PTARH.DM105/2007, Departamento de Engenharia Civil e Ambiental, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 111p.

Silva, P. C.; Moe, R. L. (2019). "A class of prokaryotic organisms coextensive with the division Cyanophycota of the kingdom Monera." Department of Botany, University of California, Berkeley, California.

Silva. A, *et al.* (2021). "PFAS Exposure Pathways for Humans and Wildlife: A Synthesis of Current Knowledge and Key Gaps in Understanding" Environmental Toxicology and Chemistry—Volume 40, Number 3—pp. 631–657.

Silva Filho, P. A. (2007). "Diagnóstico Operacional de Lagoas de Estabilização" Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Engenharia Civil, 169 p.

Sisinni, C. L. S.; Oliveira-Filho, E. C. (2013). "Princípios de Toxicologia Ambiental" Editora Interciência, Rio de Janeiro. 198 p.

Soares, S.R.A.; Gomes, S.R. (1999)." Análise de Desempenho de Processos de Tratamento de Esgotos no DF." Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Civil). Universidade de Brasília. Brasília, DF, 80p.

Soares, D. N. E S (2009). "Bases microbiológicas e químicas da qualidade ambiental da água" Dissertação de Mestrado, Centro Universitário Vila Velha, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Ecossistemas, Vila Velha.

Souza, J.R.; Moraes, M.E.B; Sonoda, S.L.; Santos, H.C.R.G. (2014). “A importância da qualidade da água e os seus múltiplos usos: caso Rio Almada, sul da Bahia, Brasil”. REDE - Revista Eletrônica do PRODEMA, Fortaleza, CE, Brasil. 8(1).

SNIS - Painel de Informações sobre Saneamento. (2021). “Esgotamento Sanitário”. Disponível em: < http://antigo.snis.gov.br/painel-informacoes-saneamento-brasil/web/painel-esgotamento-sanitario>. Acesso em 22 de janeiro de 2023.

Tucci, C.E.M. (2007). “Hidrologia: Ciência e Aplicação.” Ed. Da Universidade/ EDUSP. Coleção ABRH de Recursos Hídricos. Porto Alegre- RS. 4ta Ed. 944 p.

Tundisi, J. G. (2003). “Água No Século XXI: Enfrentando A Escassez.” São Carlos: RiMa/IIE. 247p.

Tundisi, J.G. (2001). "Limnologia e gerenciamento integrado de recursos hídricos. Avanços conceituais e metodológicos" Ciência e Ambiente 21. 9-20 p.

Veról, A.P.; Volschan, I.J. (2007). “Inventário e análises de padrões de lançamento de esgotos sanitários: visão nacional e internacional”. XVII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos.

Von Sperling, M. (2014). “Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos.” 4. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, v. 1.

Von Sperling, M. (2016). “Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Princípios básicos do tratamento de esgotos.” 2. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, v. 2.

Von Sperling, M. (2019). “Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Lagoas de estabilização.” 3. ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, v. 3.

Von Sperling, M. (2018), “Princípios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Lodos Ativados.” 4. Ed. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, v.4.

WHO – World Health Organization. (2021). “Toxic Cyanobacteria in Water – A Guide to their Public Health Consequences, Monitoring and Management” Edited by Ingrid Chorus and Martin Welker. CRC Press. Taylor & Francis Group. 2dh Ed. 839 p.

Wilmotte, A. (1994). “Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria.” In: Bryant DA, editor: The molecular biology of cyanobacteria. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers:1–25.

Wojciewchowski, J (2013). “Isolamento e Cultivo de microalgas”. Universidade Federal do Paraná – Curitiba, Brasil. 90 p.

World Economic Forum (2023). “The Global Risks Report 2023”. Insight Report. 18th Edition. 98 p.

Yang, Y ; Yu, G ; Chen, Y ; Jia, N ; Li, R. (2021). “Four decades of progress in cylindrospermopsin research: The ins and outs of a potent cyanotoxin”. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Hubei 430072, China. Journal of Hazardous Materials 406 124653.