

II 548 - AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EFLUENTE SUÍNO COM *LACTUCA SATIVA* APÓS TRATAMENTO EM CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA (CCM)

Ketley Costa Rocha Arruda⁽¹⁾

Engenheira ambiental pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO). Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Goiás (UFG). Doutoranda em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Ana Carla Sorgato⁽²⁾

Engenheira Ambiental e Sanitarista pela Universidade Federal de Santa Maria campus Frederico Westphalen (UFSM). Mestre em Engenharia Ambiental pela UFSC. Doutoranda em Engenharia Ambiental na UFSC.

Thamires Custódio Jeremias⁽³⁾

Engenheira Ambiental pela Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Mestre em Energia e Sustentabilidade pela UFSC. Doutoranda em Engenharia Ambiental na UFSC.

Flavio Rubens Lapolli⁽⁴⁾

Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento pela Universidade de São Paulo (USP). Professor Titular da UFSC no Departamento de Engenharia Ambiental e Sanitária (ENS).

Endereço⁽¹⁾: Campus universitário Reitor João David Ferreira Lima, R. Delfino Conti, s/n – Florianópolis – SC - CEP: 88040-900 - Brasil – Tel.: +55 48 3721-7750 - e-mail: eng.ketleyc@gmail.com

RESUMO

O tratamento de efluentes suínos utilizando uma célula a combustível microbiana (CCM) pode ser uma alternativa interessante para melhoria da qualidade do efluente e simultânea geração de energia elétrica. Embora estudos recentes reportem que esta tecnologia apresenta elevado desempenho na remoção de DQO, resultados referentes a toxicidade do efluente tratado não são muito explorados na literatura. Neste sentido, este estudo buscou avaliar em ensaios comparativos a toxicidade do efluente suíno, antes e após tratamento pela CCM de câmara única. Os ensaios foram realizados utilizando o organismo-teste *Lactuca sativa*, avaliando a inibição do crescimento radicular e do hipocótilo. Os resultados foram analisados usando as técnicas estatísticas ANOVA, teste de Tukey e regressão não linear. O efluente bruto apresentou um forte potencial tóxico para o organismo-teste (EC₅₀ de 18,24%), enquanto o efluente tratado teve uma redução do potencial tóxico (EC₅₀ de 21,70%). O crescimento radicular apresentou aumento de 13,9% quando comparado ao efluente bruto na concentração de 100%. Em relação ao crescimento do hipocótilo, não houve diferença estatística dentro dos níveis de significância ($p < 0,05$) entre as diversas concentrações estudadas do efluente bruto e tratado, exceto para a concentração de 100%. Os resultados toxicológicos da presente pesquisa indicam que esta tecnologia pode ser utilizada como uma unidade de pré-tratamento do efluente suíno

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento Biológico, Bioeletroquímica, Ecotoxicidade, Fitotoxicidade, Risco Ambiental.

INTRODUÇÃO

A célula a combustível microbiana (CCM) é uma tecnologia inovadora que permite a melhoria da qualidade do efluente e a geração simultânea de energia elétrica. Diversos tipos de águas residuárias, dentre elas efluentes domésticos e de agroindústrias foram utilizadas na CCM como fonte de matéria orgânica para os microrganismos eletroativos, que por meio de um sistema de conversão bioquímica, gera eletricidade (OBILEKE *et al.*, 2021). As principais configurações arquitetônicas da CCM são: (i) câmara dupla, sendo que o ânodo e o cátodo são separados por uma membrana de troca de íons, e (ii) a câmara única ou simples, em que não há uma barreira física que separe os eletrodos (NAWAZ *et al.*, 2022). A célula de câmara simples se destaca devido a não necessidade de aeração, menor resistência interna e melhor difusão de prótons (LIU; LOGAN, 2004).

Efluentes suínos possuem alta carga orgânica, com demanda química de oxigênio (DQO) entre 1000 e 28000 mg L⁻¹, além de conter diversos compostos inorgânicos, como fósforo, nitrogênio, cálcio e

magnésio (LI et al., 2022). Esse efluente também contém antibióticos e hormônios que são excretados nas fezes e urinas devido a incompleta metabolização pelos suínos (CHENG *et al.*, 2018). O lançamento inadequado deste efluente em corpos d'água causa impactos ambientais como a eutrofização e, devida a sua elevada patogenicidade, pode oferecer riscos à saúde humana e a biota aquática (BARROS *et al.*, 2019). Contudo, o tratamento com a CCM pode melhorar a qualidade do efluente e gerar um sistema de autossuficiência energética.

O desempenho da CCM é geralmente avaliado em relação aos parâmetros elétricos como eficiência coulômbica e densidade de potência, e aos parâmetros de qualidade da água como DQO e remoção de poluentes inorgânicos. Estudos utilizando o efluente suíno obtiveram resultados eficientes na remoção de DQO após o tratamento com a CCM, com percentuais de eficiência entre 76 e 98% (CHENG *et al.*, 2020a; ICHIHASHI; HIROOKA, 2012). Alguns autores também demonstraram remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e de antibióticos do tipo sulfonamidas (CHENG *et al.*, 2020b, 2021). Por exemplo, no trabalho realizado por Cheng *et al.* (2020b), uma remoção máxima de 99,53% foi observada para o antibiótico sulfametoxazol utilizando uma CCM como unidade de tratamento, porém a aplicação dessa metodologia usando o efluente suíno ainda necessita ser explorada.

Os testes toxicológicos permitem avaliar o grau de toxicidade do efluente e os seus impactos ecológicos. A utilização de semente de alface (*Lactuca sativa*) é um dos testes toxicológicos recomendado pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA) e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD). Este ensaio tem como características a simplicidade, baixo custo e a rapidez nos resultados (LUTTERBECK *et al.*, 2020). De Bruin *et al.* (2017) afirmam que a alface é capaz de demonstrar respostas a substâncias fitotóxicas em seu crescimento e em alterações estruturais. A aplicação da análise toxicológica com o organismo-teste *L. sativa* já foi abordada em estudos com CCM utilizando efluente doméstico e de lavanderias hospitalares (SORGATO 2022; LUTTERBECK *et al.*, 2020), porém a aplicação dessa metodologia usando o efluente suíno ainda necessita ser explorada.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade toxicológica do efluente suíno sintético após tratamento com célula a combustível microbiana de câmara única, por meio dos testes de fitotoxicidade com o organismo-teste *Lactuca sativa* (semente de alface).

MATERIAIS E MÉTODOS

UNIDADE EXPERIMENTAL- CCM

A configuração arquitetônica utilizada neste trabalho consistiu em um CCM de câmara única, fabricada em acrílico translúcido com volume útil de trabalho de 2 L e eletrodo do tipo MEA (*Membrane Electrode Assembly*), com área útil de 132 cm². O eletrodo era formado por uma membrana trocadora de prótons Nafion™ (212) introduzida entre o ânodo de papel de carbono e o cátodo de tecido de carbono com uma camada de platina (0,4 mgPt cm⁻²). Placas de aço inoxidável foram usadas como coletores de elétrons. Um fio de cobre e um resistor de 1000 Ω conectava os eletrodos externamente. O sistema operava em regime de fluxo contínuo com um tempo de detenção hidráulica (TDH) de 24 horas. O efluente suíno utilizado nos ensaios toxicológicos foi coletado na entrada e na saída do sistema (Figura 1).

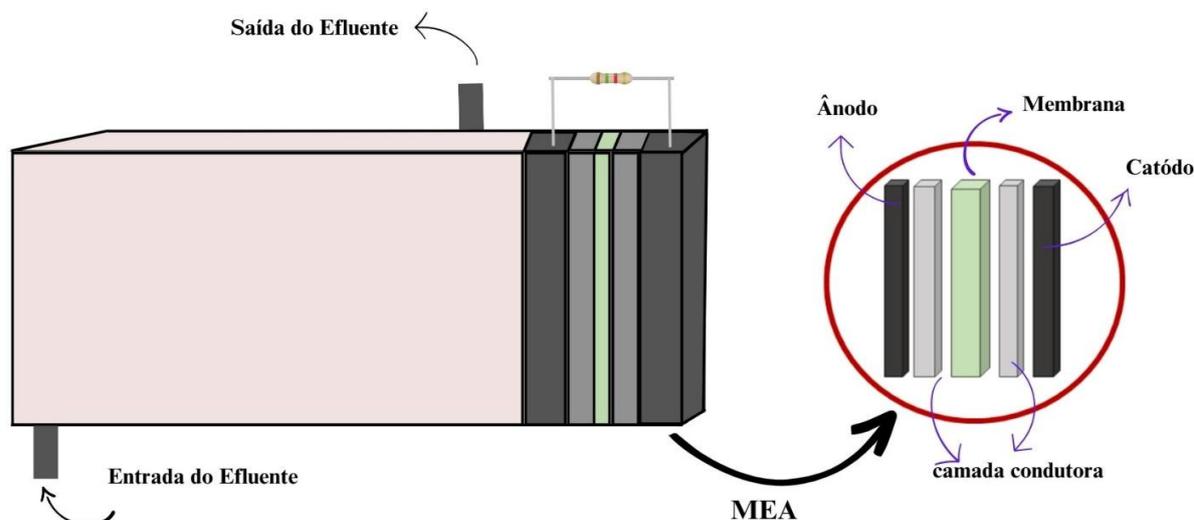


Figura 1: Unidade Experimental da CCM

MÉTODOS ANALÍTICOS

A caracterização físico-química do efluente suíno sintético bruto, bem como do efluente após o tratamento com a CCM, foram realizados por meio dos parâmetros apresentados na Tabela 1, com base nas recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* – APHA (2012).

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos analisados.

PARÂMETRO	MÉTODO
Demanda Química de Oxigênio (DQO solúvel/total)	Método colorimétrico - Kit Hach 8000
Cloreto (Cl ⁻)	Cromatografia iônica (DIONEX ICS-5000).

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA

A avaliação fitotoxicológica do efluente foi realizada utilizando o organismo-teste *L. sativa*, conforme o método desenvolvido por Sobrero e Ronco (2004). Os efeitos tóxicos observados foram a inibição do crescimento radicular (raízes) e a inibição do crescimento hipocótilo das plântulas após a exposição das amostras de efluente suíno antes e depois do tratamento com CCM.

Os ensaios foram realizados utilizando placas de Petri com papel filtro, nas quais foram dispostas 10 sementes de *L. sativa* e 2 mL do efluente em diferentes concentrações (25%, 50%, 75% e 100%). As amostras foram mantidas em temperatura controlada 22°C por 120 horas na ausência de luz. Este ensaio, também foi conduzido por um controle negativo que consistiu na exposição dos organismos-teste com água mineral (0%). Cada concentração foi testada em triplicata. Um esquema dos ensaios toxicológicos realizados é apresentado na Figura 2.

Os resultados dos ensaios realizados com *L. sativa* foram analisados utilizando a Análise de Variância (ANOVA) de maneira a determinar as diferenças entre os dados, seguido pelo teste de Tukey com nível de significância de 0,05 ($p < 0,05$). Além disso, a EC_{50} (concentração efetiva na qual ocorreu 50% de inibição do crescimento radicular) foi estimada por meio do modelo de regressão não-linear, de acordo com *Environmental Canada* (2007). Em todas as análises estatísticas foi utilizado o *software* Statistica.

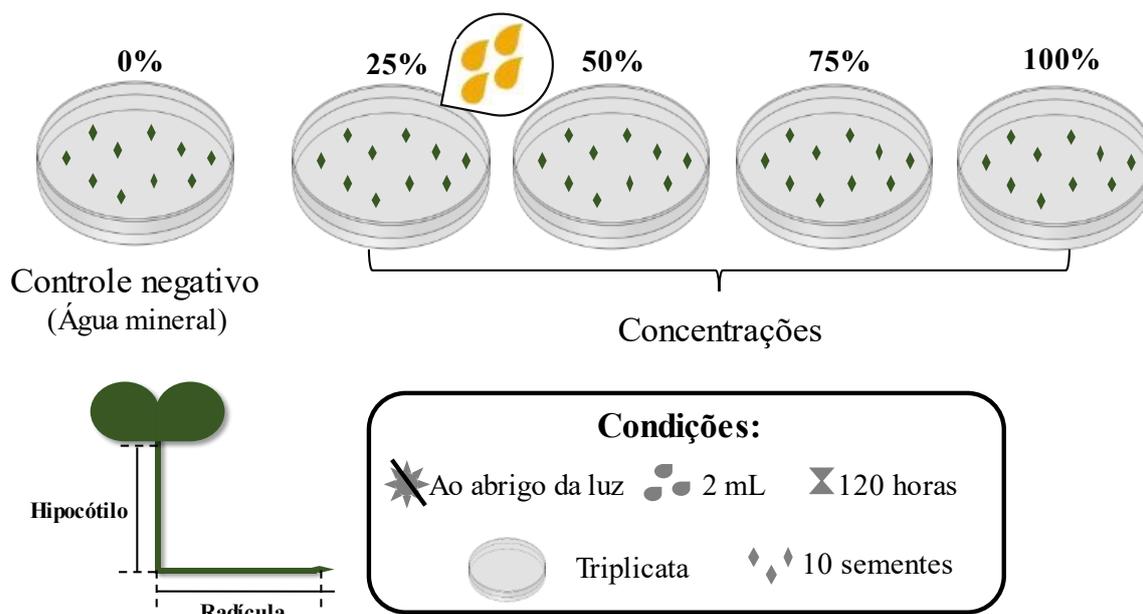


Figura 2: Esquema dos ensaios toxicológicos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE

A caracterização do efluente suíno bruto e do efluente tratado com a CCM é apresentada na Tabela 2. A eficiência de remoção da DQO nesse sistema foi de aproximadamente 35%. Em relação ao cloreto, praticamente não houve remoção.

Tabela 2: Caracterização do efluente bruto e após tratamento CCM

PARÂMETRO	EFLUENTE BRUTO	EFLUENTE APÓS TRATAMENTO CCM
DQO (mg L ⁻¹)	3014±1	1958±2
Cloreto Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	343,12	333,66

ANÁLISE TOXICOLÓGICA

As análises químicas são capazes de medir uma quantidade limitada de poluentes, tais como DQO, nitrogênio, fósforo, que nem sempre estão relacionados aos efeitos tóxicos das águas residuais (YU *et al.*, 2019). Por outro lado, os testes de toxicidade podem detectar os efeitos da mistura de todos os produtos químicos em uma amostra e fornecer efeitos biológicos adversos. Neste sentido, a CCM, como uma tecnologia emergente, necessita da avaliação toxicológica do seu efluente.

Os resultados toxicológicos dos ensaios com efluente suíno sintético após tratamento com a CCM utilizando o organismo-teste *L. sativa* indicaram que, tanto o efluente bruto quanto o efluente após o tratamento, inibiram significativamente o crescimento radicular ($p < 0,05$) (Figura 3).

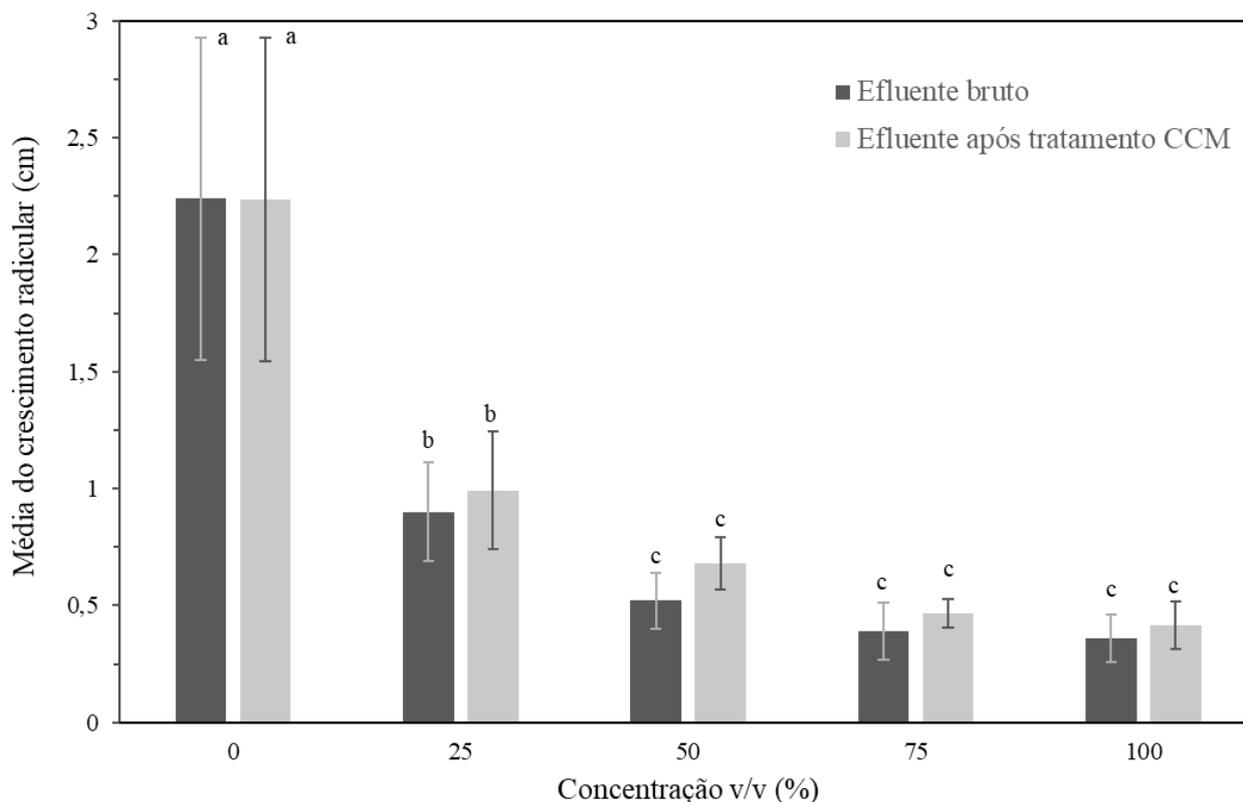


Figura 3: Efeito da inibição do crescimento radicular da *L. sativa* nos ensaios usando efluente suíno sintético bruto e após tratamento com CCM

As amostras de efluente bruto exibiram efeito tóxico agudo com inibição do crescimento radicular entre 59,92 e 83,86% para as soluções em concentrações entre 25 e 100%, respectivamente. De acordo com o teste de Tukey, as concentrações de 50, 75 e 100% apresentaram resultados estatisticamente semelhantes de inibição do crescimento radicular (76,78, 82,35 e 83,86%). Em seu estudo da ecotoxicidade de águas superficiais em áreas de produção suína, Ramírez-Morales *et al.* (2021) observaram que as amostras com efluente bruto desencadearam uma inibição superior a 98% no crescimento radicular. Os autores relataram que a inibição do crescimento radicular utilizando o efluente suíno bruto indica um risco potencial substancial para a *L. sativa*.

O efluente após o tratamento pela CCM também apresentou efeito tóxico agudo estatisticamente significativo ($p < 0,05$) no crescimento radicular para as diversas concentrações estudadas, com valores de inibição entre 55,62 e 81,47%. Assim como para o efluente bruto, o teste de Tukey demonstrou que ambas concentrações do efluente após o tratamento pela CCM são estatisticamente semelhantes, com exceção da concentração de 25%.

Quanto ao resultado da EC_{50} , o efluente bruto apresentou valor de $18,24 \pm 3,64\%$, indicando também que o efluente bruto tem efeito tóxico agudo significativo, uma vez que com apenas 18% de sua concentração é capaz de inibir 50% do crescimento radicular da *L. sativa*. A EC_{50} para o efluente após o tratamento foi de $21,70 \pm 4,61\%$. Embora ambas amostras causem efeitos potencialmente tóxicos para o organismo teste, vale destacar que o efluente tratado pela CCM apresentou aumento na EC_{50} , o que indica redução do potencial tóxico do efluente.

Isso pode ser evidenciado pela análise do crescimento radicular. Os testes de toxicidade com o efluente após o tratamento CCM apresentaram pequeno aumento do crescimento radicular (0,36 cm com efluente bruto a 100% para 0,41 cm como efluente após tratamento CCM a 100%). Resultado semelhante foi observado em estudo realizado por Lutterbeck *et al.* (2020), em que o tratamento de águas residuais de lavanderias hospitalares em CCM resultou na redução do efeito tóxico sobre o crescimento radicular da *L. sativa* de 0,54 cm com efluente bruto para 1,26 cm com efluente após tratamento.

A inibição da *L. sativa* em águas residuais tem sido associada a presença de compostos orgânicos e íons de sal dissolvidos (DÓRIA *et al.*, 2020). Devido a elevada concentração da DQO (3014 mg L^{-1}) e de cloretos (343 mg L^{-1}) presentes no efluente bruto, acredita-se que estes parâmetros foram importantes causadores dos efeitos tóxicos influenciando substancialmente no desenvolvimento radicular das plântulas germinadas.

Com relação ao efeito de inibição de crescimento do hipocótilo, os resultados indicaram que somente as soluções com concentração de 100% apresentaram diferença significativa do crescimento (Figura 4).

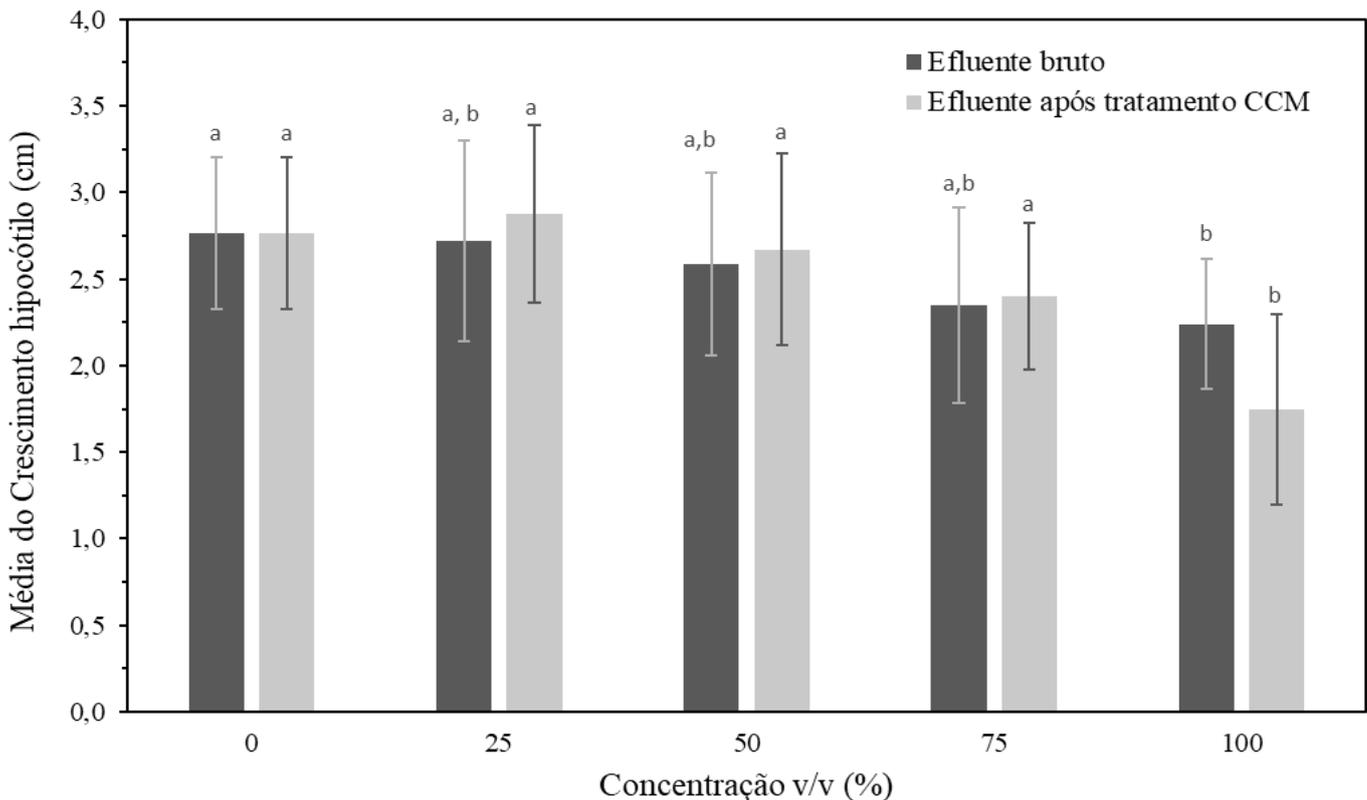


Figura 4: Efeito da inibição do crescimento do hipocótilo da *L. sativa* usando efluente suíno sintético bruto e após tratamento com CCM

O crescimento do hipocótilo no efluente bruto nas diversas concentrações estudadas foram estaticamente semelhantes, com exceção do efluente na concentração de 100% (crescimento de 81,02%). O efluente após tratamento pela CCM também manteve o crescimento do hipocótilo estatisticamente semelhante para as concentrações de 25, 50 e 75%. No entanto, a concentração de 100% apresentou redução de 36,76% no crescimento comparado ao controle. Vale ressaltar que o crescimento radicular apresenta maior sensibilidade a exposição de compostos químicos que o crescimento do hipocótilo, devido ao contato direto das raízes com a solução-teste, conforme demonstrado em outros estudos (LYU *et al.*, 2018)

CONCLUSÕES

Este estudo avaliou a toxicidade do efluente suíno sintético após o tratamento com uma célula a combustível microbiana utilizando a *L. sativa*. Os resultados indicaram que esse efluente bruto apresenta forte potencial tóxico para esse organismo-teste com EC_{50} de 18,24%. No entanto, após o tratamento CCM o efluente apresentou uma melhoria quanto a redução do potencial tóxico, com uma EC_{50} de 21,70%. O crescimento radicular e do hipocótilo apresentaram, na maioria das concentrações, resultados levemente superiores utilizando o efluente após tratamento com a CCM.

Neste sentido, a CCM pode ser utilizada como uma tecnologia de pré-tratamento do efluente suíno, da qual além de melhorar a qualidade do efluente, gera energia elétrica com a possibilidade de reaproveitamento energético no próprio tratamento. A utilização de sistemas híbridos, associando a CCM a outras tecnologias, como *wetlands* construídos e biorreatores a membrana (BRM) se apresenta como uma alternativa promissora, podendo reduzir a toxicidade geral do efluente e, se caracterizando como um sistema ambientalmente sustentável, com viabilidade técnica e econômica.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC). Os autores receberam apoio por meio da infraestrutura da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), especialmente do Laboratório de Reuso de Águas (LaRA).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARROS, E. C. *et al.* Potencial agrônômico dos dejetos de suínos. *Embrapa Suínos e Aves*, v. 1, p. 52, 2019.
2. CHENG, D. *et al.* Performance of microbial fuel cell for treating swine wastewater containing sulfonamide antibiotics. *Bioresource Technology*, v. 311, p. 123588, 1 set. 2020a.
3. CHENG, D. *et al.* Applying a new pomelo peel derived biochar in microbial fuel cell for enhancing sulfonamide antibiotics removal in swine wastewater. *Bioresource Technology*, v. 318, p. 123886, 1 dez. 2020b.
4. CHENG, D. *et al.* Improving sulfonamide antibiotics removal from swine wastewater by supplying a new pomelo peel derived biochar in an anaerobic membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, v. 319, p. 124160, 1 jan. 2021.
5. CHENG, D. L. *et al.* Bioprocessing for elimination antibiotics and hormones from swine wastewater. *Science of The Total Environment*, v. 621, p. 1664–1682, 15 abr. 2018.
6. DE BRUIN, W. *et al.* Ultrastructural and developmental evidence of phytotoxicity on *cos lettuce (Lactuca sativa)* associated with nonylphenol exposure. *Chemosphere*, v. 169, p. 428–436, 1 fev. 2017.
7. DÓRIA, A. R. *et al.* Electrochemical oxidation of indanthrene blue dye in a filter-press flow reactor and toxicity analyses with *Raphidocelis subcapitata* and *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 198, p. 110659, 15 jul. 2020.
8. ENVIRONMENTAL CANADA. *Guidance document on statistical methods for environmental toxicity tests. Environmental Protection Series, EPS 1/RM/46, 2005 with 2007 updates*, 2007.
9. ICHIHASHI, O.; HIROOKA, K. Removal and recovery of phosphorus as struvite from swine wastewater using microbial fuel cell. *Bioresource Technology*, v. 114, p. 303–307, 1 jun. 2012.
10. LI, S. *et al.* Microalgae-driven swine wastewater biotreatment: Nutrient recovery, key microbial community and current challenges. *Journal of Hazardous Materials*, v. 440, p. 129785, 15 out. 2022.
11. LIU, H.; LOGAN, B. E. Electricity Generation Using an Air-Cathode Single Chamber Microbial Fuel Cell in the Presence and Absence of a Proton Exchange Membrane. *Environmental Science & Technology*, v. 38, n. 14, p. 4040–4046, 12 jun. 2004.
12. LUTTERBECK, C. A. *et al.* Toxicity evaluation of hospital laundry wastewaters treated by microbial fuel cells and constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, v. 729, p. 138816, 10 ago. 2020.
13. LYU, J. *et al.* Testing the toxicity of metals, phenol, effluents, and receiving waters by root elongation in *Lactuca sativa* L. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 149, p. 225–232, 1 mar. 2018.
14. NAWAZ, A. *et al.* Microbial fuel cells: Insight into simultaneous wastewater treatment and bioelectricity generation. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 161, p. 357–373, 1 maio 2022.
15. OBILEKE, K. *et al.* Microbial fuel cells, a renewable energy technology for bio-electricity generation: A mini-review. *Electrochemistry Communications*, v. 125, p. 107003, 1 abr. 2021.
16. RAMÍREZ-MORALES, D. *et al.* Pharmaceuticals in farms and surrounding surface water bodies: Hazard and ecotoxicity in a swine production area in Costa Rica. *Chemosphere*, v. 272, p. 129574, 1 jun. 2021.
17. SOBRERO, Maria Cecilia; RONCO, Alicia. *Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga Lactuca sativa L. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. México: Instituto Mexicano de Tecnología del Agua*, p. 63-70, 2004.
18. SORGATO, A. C. Célula a combustível microbiana: operação em diferentes tempos de detenção hidráulica e extração de energia ativa. 2022. 129 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.



19. YU, Y. *et al.* *Comparative analysis of toxicity reduction of wastewater in twelve industrial park wastewater treatment plants based on battery of toxicity assays* OPEN. 2019