

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

BRUNA MÜLLER DA CUNHA

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE DISTINTOS TIPOS DE  
EFLUENTES MEDIANTE ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA  
UTILIZANDO *ARTEMIA SALINA* E *LACTUCA SATIVA*

Porto Alegre, 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

BRUNA MÜLLER DA CUNHA

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA DE DISTINTOS TIPOS DE  
EFLUENTES MEDIANTE ENSAIOS DE TOXICIDADE AGUDA  
UTILIZANDO *ARTEMIA SALINA* E *LACTUCA SATIVA*

Trabalho de conclusão apresentado junto à Atividade  
de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do  
Curso de Química, como Requisito parcial para  
obtenção do grau de Bacharel em Química

Profa. Dra. Tânia Mara Pizzolato

Orientadora

Dra. Carla Sirtori

Co-orientadora

Porto Alegre, 2011

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Química Analítica e Ambiental do Instituto de Química da UFRGS e no Laboratório de Engenharia Sanitária da Universidade de Caxias do Sul e financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), no período de março de 2011 a 25 de junho de 2011.

## AGRADECIMENTOS

Tudo aconteceu muito rápido: colégio, faculdade, UFRGS, Química. Foram anos muito importantes na minha vida, aprendi demais, constantemente. Conheci muitas pessoas durante a graduação que se tornaram importantes para mim. Uma delas é a Profª Dra. Tânia Mara Pizzolato, a quem agradeço a orientação e apoio. Agradeço também à Carla Sirtori, que conheci no último semestre, mas foi essencial para realização deste trabalho.

Agradeço ao Saulo e Lademir da UCS pelas análises físico-químicas dos efluentes. Agradeço à Profª Vânia Schneider pelo acesso às amostras do efluente hospitalar. Ao Luiz Carlos pela coleta das amostras em Canoas. Agradeço também ao Dr. Alvaro Vargas da Universidade do Chile pelo envio do artigo sobre *Artemia salina*.

Também agradeço aos colegas do laboratório pela convivência, ensinamentos, ajuda e companheirismo. Aos amigos que fiz durante a faculdade, obrigada pela força, amizade e pelas risadas, elas foram essenciais. Aos professores do Instituto de Química pelos ensinamentos, a alguns pela tentativa de.

Aos meus amigos do colégio, do TM3, da praia, das festas, do Grêmio: obrigada pelos momentos especiais.

Agradeço à minha família, em especial às minhas avós e à minha dinda Marizete, pelo apoio químico. Agradeço às minhas irmãs Maia e Malu, mas em especial à Maia por me agüentar todos os dias. Agradeço ao meu namorado Juliano pelo carinho e apoio.

Tato e Mamy: dedico este trabalho e minha formatura a vocês, obrigada por todo apoio, carinho e confiança que sempre depositaram em mim.

## ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	iv
ÍNDICE GERAL .....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABELAS .....	ix
ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	x
1. RESUMO .....	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.1. Contaminação das águas .....	13
2.2. A diversidade dos Efluentes .....	16
2.3. Análises físicas e químicas.....	18
2.4. pH.....	18
2.5. Nitrogênio .....	19
2.6. Matéria orgânica .....	19
2.7. Bioensaios em amostras ambientais .....	20
2.8. Bioensaio com <i>Artemia salina</i> .....	21
2.9. Bioensaio com <i>Lactuca sativa</i> .....	24
2.10. Bioensaio com <i>Daphnia Magna</i> .....	26
2.11. Demais bioensaios de ecotoxicidade .....	27
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	29
3.1. Matrizes estudadas.....	29
3.2. Efluentes Doméstico e Lixiviado.....	29
3.3. Efluente Industrial .....	31
3.4. Efluente Vinícola .....	31
3.5. Efluente Hospitalar .....	31
3.6. Caracterização física e química das matrizes estudadas .....	31
3.6.1. pH e Alcalinidade .....	32
3.6.2. Demanda Química de Oxigênio (DQO) .....	32
3.6.3. Nitrogênio Amoniacal e NKT.....	33

3.7. Avaliação Ecotoxicológica das matrizes estudadas .....	34
3.7.1. Determinação da toxicidade aguda frente a <i>Artemia salina</i> .....	34
3.7.2. Determinação da toxicidade aguda frente a <i>Lactuca sativa</i> .....	35
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
4.1. Caracterização física e química das matrizes estudadas .....	38
4.2. Bioensaios frente à <i>Artemia salina</i> .....	41
4.3. Bioensaios frente à <i>Lactuca sativa</i> .....	44
4.4. Reprodutibilidade dos ensaios.....	48
4.5. Considerações finais .....	49
5. CONCLUSÃO .....	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	51
ANEXO 1 .....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Origem e rota dos contaminantes no meio ambiente.	11
<b>Figura 2</b>	Foto retirada em microscópio óptico de <i>Artemia salina</i> (A): adulto (aumento de 100x); (B): adulto (aumento de 250x); (C): Larva náuplio com 48 horas de vida (aumento de 400x) (FREITAS, 2008).	19
<b>Figura 3</b>	Náuplio recentemente eclodido (MAYORGA <i>et al.</i> , 2010).	20
<b>Figura 4</b>	A) Aspecto das sementes de alface após cinco dias de incubação; B) Comparação entre o crescimento de duas raízes incubadas com diferentes amostras.	23
<b>Figura 5</b>	Fluxograma do sistema piloto de tratamento de esgoto sanitário (ETE) do IPH/UFRGS em Canoas.	28
<b>Figura 6</b>	Digestor para DQO e tubos após digestão com K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> : dicromato remanecente e dicromato consumido.	31
<b>Figura 7</b>	Sistema de digestão com lavagem de gases e destilador Kjelttec.	32
<b>Figura 8</b>	Local de eclosão e cultivo das larvas de <i>Artemia salina</i> .	34
<b>Figura 9</b>	Preparação do ensaio com sementes de alface.	35
<b>Figura 10</b>	Demonstração da medição da raiz da semente de alface.	35
<b>Figura 11</b>	Representação dos dois grupos de efluentes avaliados.	37
<b>Figura 12</b>	Controle do bioensaio da <i>Artemia salina</i> em solução aquosa de dicromato de potássio (K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ), em diferentes concentrações.	41
<b>Figura 13</b>	Taxa de Mortalidade do micro crustáceo <i>Artemia salina</i> para efluentes de entrada da estação de tratamento piloto.	42
<b>Figura 14</b>	Taxa de Mortalidade do micro crustáceo <i>Artemia salina</i> para efluentes da estação de tratamento piloto.	43
<b>Figura 15</b>	Taxa de Mortalidade do micro crustáceo <i>Artemia salina</i> frente aos demais efluentes estudados.	44
<b>Figura 16</b>	Controle do bioensaio com sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	44
<b>Figura 17</b>	Efluentes de entrada da estação piloto <b>A</b> : Taxa de germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i> <b>B</b> : Taxa de Crescimento de raiz de sementes de <i>Lactuca sativa</i> .	45
<b>Figura 18</b>	Efluentes da estação piloto <b>A</b> : Taxa de germinação de sementes	47

de *Lactuca sativa* **B**: Taxa de Crescimento de raiz de sementes de *Lactuca sativa*.

**Figura 19** Efluentes distintos **A**: Taxa de germinação de sementes de *Lactuca sativa* **B**: Taxa de Crescimento de raiz de sementes de *Lactuca sativa*.

48



## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Principais características físicas dos esgotos domésticos.	13
<b>Tabela 2</b>	Descrição das aplicações dos bioensaios com <i>Artemia salina</i> .	21
<b>Tabela 3</b>	Aplicações do bioensaio com sementes de alface, <i>Lactuca sativa</i> .	23
<b>Tabela 4</b>	Organismos representantes de diferentes níveis tróficos.	25
<b>Tabela 5</b>	Parâmetros físicos e químicos das diferentes amostras utilizadas para a realização dos bioensaios.	38

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>ANA</b>	Agência Nacional das Águas
<b>APHA</b>	American Public Health Association
<b>CE (I)<sub>50</sub> 48h</b>	Concentração Efetiva Mediana em 48 horas
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>COT</b>	Carbono Orgânico Total
<b>CV</b>	Coeficiente de variação
<b>DBO<sub>20</sub></b>	Demanda Bioquímica de Oxigênio em 20 dias
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda Bioquímica de Oxigênio em 5 dias
<b>DIN</b>	Deutsches Institut für Norming
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxigênio
<b>EH</b>	Efluente Hospitalar
<b>ELA-EU</b>	Entrada Lagoas Aeradas – Efluente Urbano
<b>ETE</b>	Estação de Tratamento de Efluentes
<b>EV</b>	Efluente Vinícola
<b>g</b>	grama
<b>IB</b>	Efluente Industrial Bruto
<b>IET</b>	Índice de Estado Trófico
<b>IPH/UFRGS</b>	Instituto de Pesquisas Hidráulica da UFRGS
<b>IQA</b>	Índice de Qualidade das Águas
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>IT</b>	Efluente Industrial Tratado
<b>K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub></b>	Dicromato de Potássio
<b>mg L<sup>-1</sup></b>	miligrama por litro

- PAOs** Processos Avançados de Oxidação
- ppm** Partes por milhão
- SLA-EU** Saída Lagoas Aeradas – Efluente Urbano

## 1. RESUMO

Os diferentes processos utilizados em tratamento de efluentes (urbanos ou industriais) têm sido cada vez mais estudados devido à problemática ambiental relacionada ao descarte destes efluentes e suas conseqüências aos sistemas aquáticos. Além da determinação quantitativa de alguns compostos presentes nos efluentes, outros parâmetros devem ser avaliados paralelamente a fim de caracterizar o efluente adequadamente. Dentre estes parâmetros, está a ecotoxicidade, que é estabelecida pela Resolução nº 357 de 2005 da CONAMA, para matrizes ambientais aquosas. O presente trabalho tem por objetivo principal a implementação e validação de dois ensaios de toxicidade aguda para amostras de efluentes reais, de distintos tipos, utilizando dois organismos de distintos níveis tróficos. A toxicidade das amostras foi avaliada em relação à taxa de mortalidade do microcrustáceo *Artemia salina* e em relação à taxa de germinação e crescimento de raiz de sementes de alface (*Lactuca sativa*). Além disso, este estudo objetiva favorecer a utilização de bioensaios economicamente mais acessíveis e tecnicamente mais simples. As matrizes estudadas também foram avaliadas através de parâmetros físicos e químicos para complementar e, eventualmente, auxiliar na interpretação dos resultados dos bioensaios. Os resultados demonstraram-se satisfatórios, uma vez que os dois testes toxicológicos selecionados apresentaram boas respostas, associadas à simplicidade de execução e viabilidade econômica dos mesmos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Contaminação das águas

O uso abusivo e descontrolado da água levou à poluição preocupante dos recursos hídricos, em escala mundial, resultando, em muitas regiões, na escassez de água de boa qualidade para saciar a sede dos seres vivos, para produção de alimentos e outros usos indispensáveis para a vida.

A poluição das águas superficiais e, crescentemente, dos lençóis freáticos, é causada principalmente pelo lançamento, direto e indireto, de despejos industriais, domésticos e agropecuários, não tratados ou insuficientemente tratados. Isso acontece, na maioria dos casos, em consequência do crescimento econômico de um país em detrimento da proteção dos seus recursos naturais.

A má utilização dos bens hídricos naturais evidencia-se, dentre muitos outros, na falta ou no mau funcionamento do tratamento dos efluentes urbanos nas estações municipais e industriais, no lançamento descontrolado de dejetos oriundos da produção em massa de animais, na ausência de aterros sanitários impermeabilizados, na contaminação de grandes áreas por resíduos químicos da indústria e do comércio, enterrados ou depositados clandestinamente, na aplicação indevida e quase sempre excessiva de agrotóxicos, além de produtos proibidos.

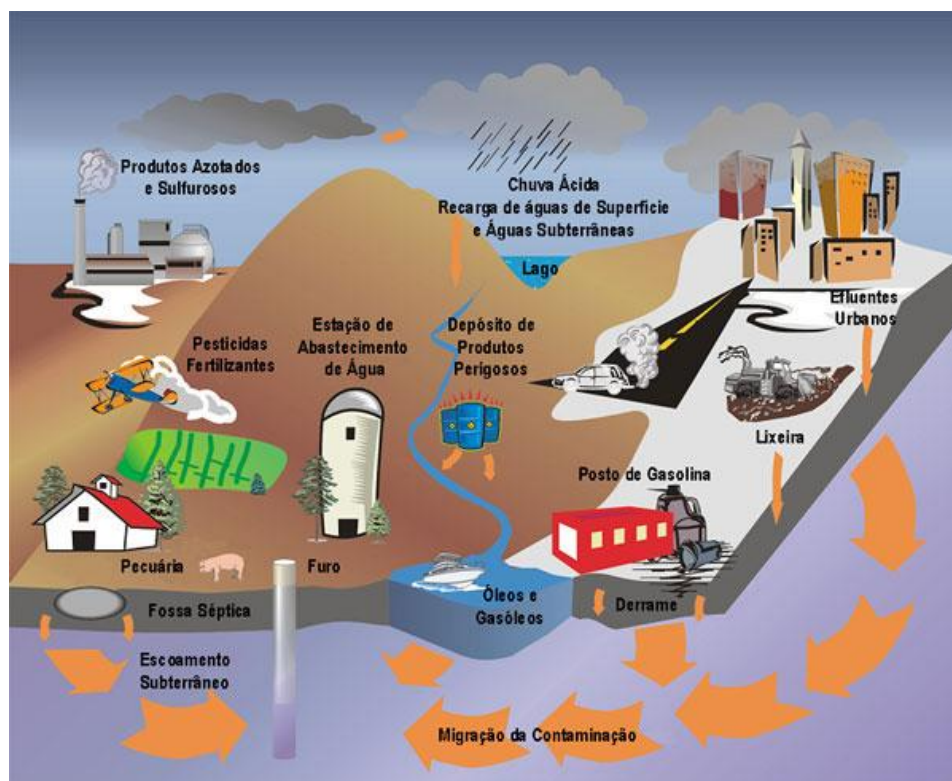
Em função disso, grandes quantidades de substâncias químicas chegam aos corpos hídricos e provocam modificações negativas do seu estado químico, físico e biológico. Assim, o círculo vicioso se fecha, porque, além da fauna e da flora nos ecossistemas, os causadores da contaminação são também prejudicados, pois necessitam de água limpa para os diversos fins (KNIE e LOPES, 2004).

Além disso, diferentes atividades antropogênicas podem liberar substâncias nocivas para o meio ambiente. Esta liberação pode ser não intencional, como no caso de acidentes e derramamentos, ou intencional ou deliberada (aplicação de biocidas e descarte de efluentes industriais sem tratamento).

Processos naturais, como a degradação de rochas, atividades vulcânicas, incêndios florestais não provocados pelo homem, também podem favorecer a liberação de contaminantes para o meio ambiente. Uma vez liberados, estes contaminantes podem atingir as águas superficiais.

Tanto os processos naturais como os antropogênicos, liberam contaminantes para o meio ambiente. O lançamento nas águas superficiais de esgoto sem qualquer tipo de tratamento ou tratado parcialmente consiste em uma das maiores fontes de contaminação do meio ambiente aquático natural. No sistema de esgoto são lançados tanto rejeitos domésticos como os de origem industrial. Portanto, urina, fezes, papel, sabão, detergentes – importantes constituintes do lixo doméstico – bem como metais e várias substâncias orgânicas (solventes, pesticidas, medicamentos, dentro outras) utilizadas podem estar presentes.

Os efluentes industriais e agrícolas podem ainda ser lançados diretamente nas águas superficiais. Ou ainda, contaminantes presentes na atmosfera podem, por deposição seca ou úmida, atingir os corpos d'água (OGA *et al.*, 2008). Na figura 1 são representadas as principais rotas de entrada dos contaminantes orgânicos no meio ambiente.



**Figura 1.** Origem e rota dos contaminantes no meio ambiente.

(<http://ambientesaudavelbiologia.wordpress.com/contaminacao-das-aguas>)

Os contaminantes presentes nas águas superficiais podem ser encontrados em solução ou em suspensão. O material em suspensão pode estar em forma de partícula ou gotícula e os contaminantes podem estar dissolvidos ou adsorvidos nestas gotículas ou partículas sólidas. Em vista destas diferentes possibilidades a polaridade, enquanto parâmetro químico, é um fator importante na distribuição e persistência dos contaminantes neste meio. Substâncias hidrofílicas tendem a se dissolver no meio e se distribuir através da superfície da água enquanto que as lipofílicas associam-se ao material particulado. (OGA *et al.*, 2008).

De acordo com o último relatório de Conjuntura de Recursos Hídricos no Brasil elaborado pela Agência Nacional de Águas (ANA) e datado do ano de 2009, no qual se realizou uma avaliação da qualidade das águas superficiais brasileiras, atualmente, 17 das 27 Unidades da Federação possuem redes de monitoramento da qualidade da água, totalizando 2.259 pontos, com um número variável de parâmetros analisados e freqüências de coleta. Para tratar deste tema no Relatório de Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil de 2009, foram utilizados 3 indicadores de qualidade das águas superficiais: o Índice de Qualidade das Águas (IQA), o Índice de Estado Trófico (IET) e a Estimativa da capacidade de assimilação das cargas de esgotos. O IQA é composto por nove parâmetros: Oxigênio dissolvido, Coliformes fecais, pH, Demanda bioquímica de oxigênio ( $DBO_{5,20}$ ), Temperatura, Nitrogênio total, Fósforo total, Turbidez e Resíduo total. Os resultados indicaram que as regiões metropolitanas (São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, Belo Horizonte, Vitória) são as principais bacias onde a qualidade das águas encontra-se em nível crítico. Além disso, algumas bacias encontram-se impactadas pelos esgotos de cidades de grande e médio porte, por exemplo, Campinas-SP e Cascavel-PR, etc. Em termos gerais, observa-se que o lançamento de esgotos domésticos é o principal fator de degradação dos corpos d'água. Estima-se que 48 % dos domicílios brasileiros possuem coleta de esgotos, sendo que 21 % se utilizam de fossas sépticas. Considerando o total de esgoto coletado, apenas 20 % recebem algum tratamento, sendo o restante lançado diretamente nos corpos d'água.

Esta situação deixa evidente a influência negativa de determinadas ações antrópicas que provocam a contínua deterioração do estado natural das águas no Brasil.

## 2.2. A diversidade dos Efluentes

Os efluentes urbanos oriundos de uma cidade, os quais geralmente são levados para o seu posterior tratamento às estações de tratamento de efluentes (ETE), na maioria dos países do mundo, são basicamente originados de três fontes distintas: efluente doméstico (incluindo residências, instituições, hospitais e comércio), água de infiltração e despejos industriais (diversas origens e tipos de indústrias) e lixiviado (proveniente de aterros sanitários). Para a caracterização, tanto qualitativa, quanto quantitativa, dos efluentes é necessária a análise em separado de cada um destes três itens: efluente doméstico, águas de infiltração, despejos industriais e lixiviado.

O conceito de efluente doméstico engloba os esgotos oriundos dos domicílios, bem como de atividades comerciais e institucionais, e suas principais características estão descritas na tabela 1. Este efluente é função do consumo de água da população, e alguns fatores influenciam neste consumo. Um destes fatores é o clima, pois climas mais quentes e secos induzem a um maior consumo de água. Outro fator importante é a condição econômica da comunidade, sendo esta de um melhor nível econômico pode-se associar a um maior consumo. Os esgotos domésticos contêm aproximadamente 99,9% de água e a fração restante inclui sólidos orgânicos e inorgânicos, bem como microrganismos. Portanto, é devido a essa fração de 0,1% que há necessidade de tratar os efluentes (VON SPERLING, 1995).

**Tabela 1.** Principais características físicas dos esgotos domésticos.

Parâmetro	Descrição
<b>Temperatura</b>	-Influência na solubilidade dos gases -Influência na viscosidade do líquido
<b>Cor</b>	-Esgoto fresco: ligeiramente cinza -Esgoto séptico: cinza escuro ou preto
<b>Odor</b>	-Esgoto fresco: odor oleoso, relativamente desagradável -Esgoto séptico: odor desagradável, devido ao gás sulfídrico e aos outros produtos de decomposição -Esgoto industrial: odor característico
<b>Turbidez</b>	-Causada por uma grande variedade de sólidos em suspensão -Esgotos mais frescos ou mais concentrados: maior turbidez

(VON SPERLING, 1995)



As águas de infiltração vêm de tubos defeituosos, conexões ou juntas. Este tipo de efluente contribui para contaminação do solo.

Por fim, a vazão de esgotos advindos dos despejos industriais é função precípua do tipo e porte da indústria, processo, grau de reciclagem, existência de pré-tratamento, etc. (VON SPERLING, 1995).

A composição química e microbiológica do lixiviado formado em um aterro sanitário é complexa e depende de diversos fatores, dentre os quais: condições ambientais, composição dos resíduos que chegam ao aterro, forma de operação do aterro e, principalmente, da dinâmica dos processos de decomposição que ocorre no interior das células do aterro sanitário (KJELSEN *et al.*, 2002).

A variabilidade da composição dos resíduos aterrados pode produzir um percolado com elevados teores de metais tóxicos, xenobióticos (substâncias estranhas ao organismo vivo) e microorganismos perigosos para a saúde (SILVA, 2002; BAUN *et al.*, 2004). CHRISTENSEN *et al.* (2001) propôs uma classificação dos poluentes presentes: matéria orgânica dissolvida (demanda química de oxigênio – DQO, carbono orgânico total – COT, etc.), compostos orgânicos xenobióticos (hidrocarbonetos halogenados, compostos fenólicos, etc.) e compostos em menor concentração (boro, arsênico, mercúrio, etc.). Além disso, análises microbiológicas demonstraram presença de um número significativo de bactérias.

O efluente hospitalar mostra-se bastante agressivo para o meio ambiente devido à dificuldade de biodegradabilidade de medicamentos, metais pesados, produtos químicos e suas misturas. Um dos principais problemas ambientais causados pela disposição de efluentes hospitalares é o seu lançamento nas redes coletoras de esgotos, do mesmo modo que os efluentes domésticos, sem nenhum tratamento prévio (EMMANUEL *et al.*, 2002).

Um efluente muito comum na região serrana do Rio Grande do Sul é o efluente vinícola, que normalmente não é tratado e é despejado juntamente com os efluentes urbanos. As cargas poluentes da indústria vinícola dependem do período de trabalho e das tecnologias usadas (produção de vinho tinto, branco ou vinhos especiais). As fontes principais de efluentes são as operações de lavagem, que ocorrem durante o esmagamento e a prensagem dos cachos, bem como na limpeza dos tanques de fermentação, dos barris e de outros equipamentos e superfícies. As águas residuais contêm resíduos de subprodutos, perdas de produtos brutos (perdas

de vinho ocorrido por acidente ou durante as lavagens), produtos usados para o tratamento do vinho (colas, materiais de filtração) e produtos de limpeza e de desinfecção, usados para lavar materiais e solos. Os constituintes dos mostos e dos vinhos estão presentes nas águas residuais em proporções variáveis: açúcares, etanol, ésteres, glicerol, ácidos orgânicos (cítrico, tartárico, málico, láctico, acético), compostos fenólicos e uma população numerosa de bactérias e de leveduras, elementos facilmente biodegradáveis. A matéria orgânica encontra-se, essencialmente, na forma solúvel, ainda que uma fração importante seja facilmente sedimentável, como sais e sólidos da filtração (RODRIGUES *et al.*, 2006).

### 2.3. Análises físicas e químicas

A qualidade da água ou dos efluentes pode ser representada através de diversos parâmetros, que traduzem as suas principais características físicas, químicas e biológicas. Muitos deles, como a DQO, DBO, pH, amônia, são parâmetros exigidos legalmente para a classificação de um efluente e para a sua disposição final, como apresentado na Resolução CONAMA nº 20, de 18 de junho de 1986. A seguir, estes parâmetros são descritos de forma sucinta, apresentando o conceito do mesmo, sua origem (natural ou antropogênica, ou seja, provocada pelo homem), a sua importância sanitária, a sua utilização e a interpretação dos resultados.

### 2.4. pH

Representa a concentração de íons hidrogênio, dando uma indicação sobre a condição de acidez, neutralidade ou alcalinidade. Sua origem natural é a dissolução de rochas, absorção de gases da atmosfera, oxidação da matéria orgânica e a fotossíntese. Sua origem antropogênica é dos despejos domésticos e de despejos industriais. É um parâmetro importante em diversas etapas do tratamento da água, se o pH está baixo indica corrosividade e agressividade nas águas de abastecimento. Uma grande variação em relação à neutralidade pode afetar a vida aquática e os microrganismos responsáveis pelo tratamento biológico destes rejeitos.

## 2.5. Nitrogênio

Dentro do ciclo do nitrogênio na biosfera, este se alterna entre várias formas e estados de oxidação. No meio aquático, o nitrogênio pode ser encontrado em várias formas (nitrogênio molecular, nitrogênio orgânico, amônia, nitrito e nitrato). Sua origem natural é proveniente de proteínas, clorofila e outros compostos biológicos. Sua origem antropogênica são os despejos domésticos, industriais, excrementos de animais e fertilizantes. É muito importante medir este parâmetro, pois o nitrogênio é um elemento indispensável para o crescimento de algas e, quando presente em elevadas concentrações em lagos e represas, pode conduzir a um crescimento exagerado desses organismos. Outro fator importante é que o nitrogênio, nos processos bioquímicos de conversão da amônia a nitrito e deste a nitrato, implica no consumo de oxigênio dissolvido no meio, o que pode afetar a vida aquática. O nitrogênio na forma de amônia é diretamente tóxico aos peixes. Em um corpo d'água, a determinação da forma predominante do nitrogênio pode fornecer informações sobre o estágio da poluição, pois a poluição recente está associada ao nitrogênio na forma orgânica ou de amônia, enquanto que uma poluição mais remota está associada ao nitrogênio de nitrato.

## 2.6. Matéria orgânica

A matéria orgânica presente nos corpos d'água e nos efluentes líquidos de natureza distinta é uma característica de primordial importância, sendo a causadora do principal problema de poluição das águas: o consumo do oxigênio dissolvido pelos microrganismos nos seus processos metabólicos de utilização e estabilização da matéria orgânica. Os principais componentes orgânicos são as proteínas, os carboidratos, a gordura e os óleos, além da uréia, surfactantes, fenóis, pesticidas e outros em menor quantidade como é o caso dos contaminantes emergentes, tais como fármacos, retardantes de chama, etc. Sua origem natural é a matéria orgânica vegetal e animal, e sua origem antropogênica são, geralmente, os despejos domésticos e industriais.

A matéria carbonácea divide-se em não biodegradável e biodegradável. Normalmente utilizam-se métodos indiretos para quantificar a matéria orgânica de uma maneira geral: a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e a demanda química de oxigênio (DQO), estes medem o consumo de oxigênio. Estes parâmetros são

importantes, pois retratam de uma forma indireta, o teor de matéria orgânica nos efluentes líquidos, sendo, portanto, uma indicação do potencial do consumo do oxigênio dissolvido e este, por sua vez, pode ser relacionado com o grau de poluição do efluente.

Ambos os métodos medem a matéria orgânica oxidada, porém a DBO retrata a quantidade de oxigênio necessária para estabilizar, através de processos bioquímicos, a matéria orgânica carbonácea. É uma indicação indireta, portanto, do carbono biodegradável, ou seja, passível de ser metabolizado por microorganismos. Já a DQO indica toda matéria orgânica presente, pois a amostra reage com um oxidante forte, o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), ou seja, neste caso a DQO é um parâmetro indicativo de toda a matéria orgânica passível de oxidação química frente ao  $K_2Cr_2O_7$ .

## 2.7. Bioensaios em amostras ambientais

Em geral, a qualidade hídrica das águas e dos efluentes aquosos pode ser controlada de duas formas distintas, embora complementares: uma é a análise físico e química que identifica e quantifica como os parâmetros descritos anteriormente e a outra é a análise biológica, que qualifica os efeitos causados pelas diferentes substâncias presentes no sistema em estudo. Como os resultados das análises químicas não permitem uma avaliação dos efeitos destas substâncias sobre os seres vivos, essa lacuna da química ambiental é preenchida pelos métodos biológicos de medição. Além disso, especificamente com os testes ecotoxicológicos, o controle da qualidade das águas ganha outra dimensão (KNIE e LOPES, 2004).

A análise ecotoxicológica tem por finalidade saber se, e em qual grandeza, as substâncias químicas, isoladas ou em forma de misturas, são nocivas, e como e onde manifestam seus efeitos.

A aplicação de tratamentos de efluentes geralmente não leva à total eliminação dos compostos tóxicos presentes em águas submetidas a este tratamento. Quando isto ocorre, compostos tóxicos inicialmente presentes ou intermediários tóxicos gerados durante estes processos podem estar presentes nos efluentes, constituindo assim um sério problema para o meio ambiente ou para o consumo, no caso de águas potáveis (CHIRON *et al.*, 2000).

A determinação da toxicidade (ou da perda dela) em diferentes fases dos tratamentos com bioensaios de toxicidade aguda, utilizando diferentes organismos, é uma das formas de monitorar os diferentes processos de tratamento de resíduos aquosos (FÉRNANDEZ-ALBA *et al.*, 2002). Atualmente existe um grande número de bioensaios desenvolvidos para determinar os níveis de toxicidade que os contaminantes podem produzir em organismos aquáticos. Como a toxicidade é baseada em resposta biológica, diferentes organismos de diferentes níveis taxonômicos devem ser utilizados a fim de aumentar a confiabilidade dos resultados.

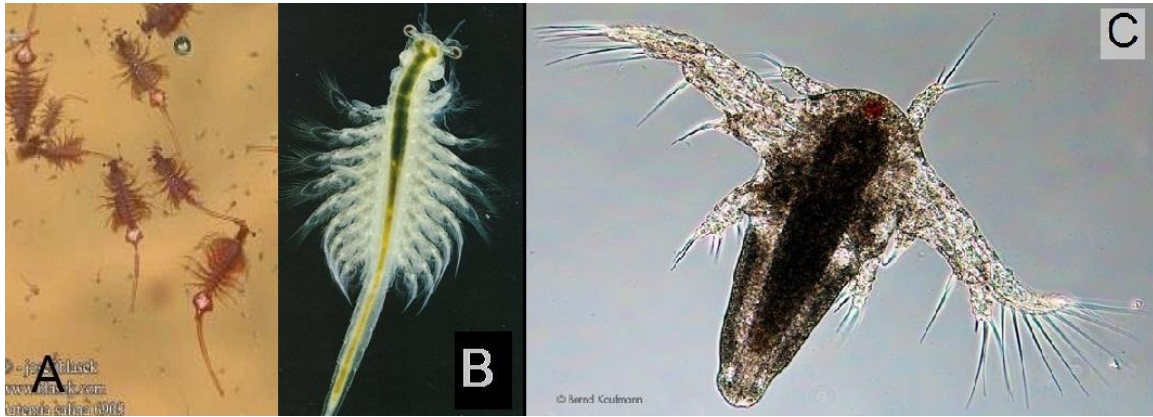
Os organismos utilizados normalmente nos testes de toxicidade incluem grupos representativos dos ecossistemas marinhos, fluviais ou terrestres, como microrganismos, plantas, invertebrados e peixes (TOTHILL e TURNES, 1996).

A toxicidade aguda de um composto ou mistura química é determinada com ensaios de curta duração que abrangem apenas parte do ciclo de vida do organismo teste. Normalmente avaliam a mortalidade ou não dos organismos, influência em reações químicas, bioquímicas, entre outros.

A toxicidade crônica é determinada com ensaios com exposição prolongada, que podem abranger todo o ciclo de vida dos organismos testes. Avaliam parâmetros sub-letais como reprodução, crescimento e deformidades (ROMANELLI, 2004)

## 2.8. Bioensaio com *Artemia salina*

A *Artemia salina* é um micro crustáceo que pode ser observado a olho nu ou com auxílio de um microscópio (figura 2). Pertence à subclasse *Branchiopoda*, que se caracteriza pela enorme quantidade de pares de apêndices achatados na região torácica, úteis na formação de correntes que auxiliam o animal na captura de alimentos, aumentando a superfície de contato com a água. Habitam em lagos e lagoas salgadas, mares, tanques de salinas, de várias partes do mundo. São filtradores, bombeiam água do mar de onde selecionam partículas convenientes para serem ingeridas como alimentos. Alimentam-se de microalgas disponíveis, matéria orgânica e fungos. (ALMEIDA, 1980).



**Figura 2.** Foto retirada em microscópio óptico de *Artemia salina* (A): adulto (aumento de 100x); (B): adulto (aumento de 250x); (C): Larva náuplio com 48 horas de vida (aumento de 400x) (FREITAS, 2008)

Os cistos podem ser armazenados em ambiente seco ou sob condições anaeróbias por no mínimo seis meses, sem perder a viabilidade e sem a necessidade de manter culturas contínuas (CALOW, 1993). Uma vez hidratado, o embrião que está dentro do cisto se ativa e após algumas horas as membranas rompem-se e nasce uma larva náuplio livre natante (Figura 3). É neste estágio do seu ciclo de vida que a *Artemia* é utilizada nos testes de toxicidade aguda.



**Figura 3.** Náuplio recentemente eclodido (MAYORGA *et al.*, 2010)

O efeito tóxico avaliado neste bioensaio consiste na perda da capacidade de movimentação das larvas, após 48 horas de incubação com as amostras a serem testadas. Para que os resultados do teste sejam confiáveis, é necessário que as larvas sejam mantidas sob as condições ótimas de crescimento, como temperatura entre 25 e 35°C, salinidade de 35‰ e pH ligeiramente alcalino, em torno de 8,0 (ALMEIDA, 1980).

Os cistos do micro crustáceo estão disponíveis a venda em lojas de animais como comida de peixes tropicais, por um preço bastante em conta. O método é rápido, confiável, barato e muito conveniente, já que possui um manuseio simples.

A *Artemia salina* já foi previamente utilizada como bioensaio em vários estudos posteriores relatados na literatura. A tabela 2 mostra a finalidade de tais estudos nos quais este bioensaio foi utilizado.

**Tabela 2.** Descrição das aplicações dos bioensaios com *Artemia salina*.

<b>Aplicação bioensaio com <i>Artemia salina</i></b>	<b>Referências</b>
Análise da toxicidade de resíduo de pesticida	MICHAEL <i>et al.</i> , 1956; TARPLEY, 1958; AREEKUL e HARWOOD, 1960; GROSCH, 1967
Análise da toxicidade de águas correntes	HOOD <i>et al.</i> , 1960
Análise da toxicidade de fármacos	ROBINSON <i>et al.</i> , 1965; RICHTER e GOLDSTEIN, 1970;
Análise da toxicidade de substâncias tóxicas em ambientes marinhos	VANHAECKE <i>et al.</i> , 1981
Análise da toxicidade de toxicinas	GRANADE <i>et al.</i> , 1976
Análise da toxicidade de dispersantes do petróleo	ZILLIOUX <i>et al.</i> , 1973
Análise da toxicidade de extratos medicinais	MEYER <i>et al.</i> , 1982; NASCIMENTO <i>et al.</i> , 2008
Análise da toxicidade de óleos essenciais	SILVA <i>et al.</i> , 2010; SIQUEIRA <i>et al.</i> , 1998; MAYORGA <i>et al.</i> , 2010
Análise da toxicidade de compostos fenólicos em efluentes	GUERRA, 2001

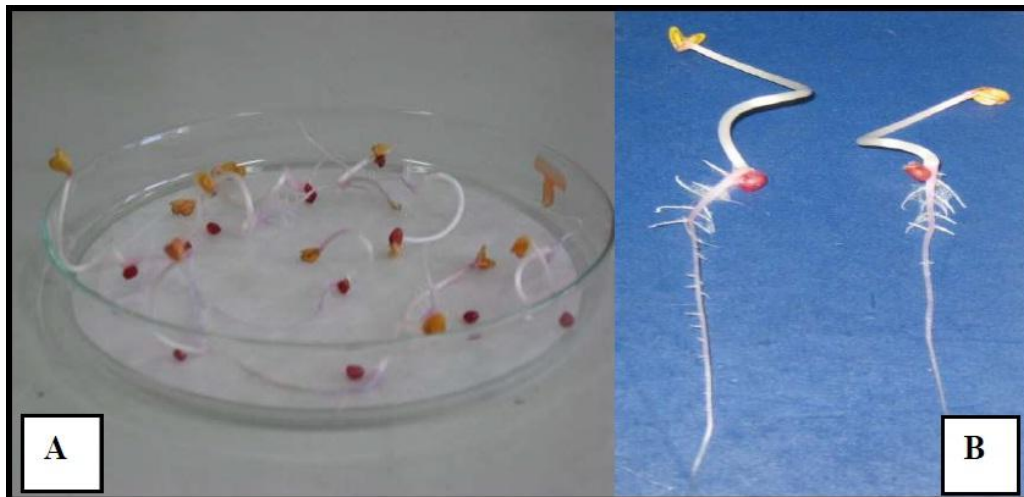
Análise da toxicidade de resíduo de remoção de corantes	FURLÁN et al, 2010 PALÁCIO <i>et al.</i> , 2009
Análise da toxicidade de água para consumo com cianobactérias	DOUMA <i>et al.</i> , 2010
Análise da toxicidade de compostos anticoagulantes e seus produtos de degradação	OKAMURA <i>et al.</i> , 2009
Análise da toxicidade de resíduos da indústria papeleira	BOROSKI <i>et al.</i> , 2008
Análise da toxicidade de águas contaminadas por toxinas durante o tratamento utilizando processos avançados de oxidação (PAOs)	FREITAS, 2008
Busca de um bom indicador de contaminação dos meio aquáticos	VARGAS e BUSTOS, 2010

### 2.9. Bioensaio com *Lactuca sativa*

Sementes de plantas têm se mostrado excelentes organismos para bioensaios de toxicidade. Desde que as sementes sejam mantidas em ambiente seco, elas permanecem dormentes e podem ser estocadas por longos períodos sem perder a viabilidade. Entretanto, uma vez hidratadas rompe-se seu estado de dormência e inicia-se a fase de germinação, onde as sementes passarão por mudanças fisiológicas rápidas e se tornarão muito sensíveis a qualquer estresse ambiental. Além desta alta sensibilidade, plantas são organismos eucariontes, fotossintetizantes e de metabolismo complexo, componentes essenciais de ecossistemas aquáticos e terrestres. Qualquer efeito tóxico em plantas pode afetar diretamente a estrutura e funcionamento de um ecossistema, resultando em depleção de oxigênio e decréscimo da produtividade primária, entre outros (WANG E FREEMARK, 1995).

O ensaio utilizando a *Lactuca sativa* avalia o efeito tóxico das amostras sobre a germinação e sobre o crescimento da raiz de sementes de alface, como mostra a figura 4. Isto significa que o ensaio avalia ao mesmo tempo, dois processos (germinação e alongação da raiz), que podem apresentar sensibilidade a diferentes compostos em diferentes níveis.





**Figura 4.** A) Aspecto das sementes de alface após cinco dias de incubação; B) Comparação entre o crescimento de duas raízes incubadas com diferentes amostras.

O bioensaio com sementes de alface tem sido bastante utilizado, assim como a *Artemia salina*, para avaliar a toxicidade de distintos sistemas, como descrito na tabela 3.

**Tabela 3.** Aplicações do bioensaio com sementes de alface, *Lactuca sativa*.

<b>Aplicação bioensaio com <i>Lactuca sativa</i></b>	<b>Referências</b>
Análise da toxicidade de solo/água com metais	MONTEIRO <i>et al.</i> , 2009; MARTÍ <i>et al.</i> , 2007; FJÄLLBORG <i>et al.</i> , 2006; INABA e TAKENAKA, 2004; CHANG <i>et al.</i> , 1997)
Análise da toxicidade de cianotoxinas com surfactantes	WANG <i>et al.</i> , 2011
Análise da toxicidade e atividade de extratos naturais	CHAPLA e CAMPOS, 2010
Análise da toxicidade de resíduos da indústria de corantes	PALÁCIO <i>et. al</i> , 2009
Análise da toxicidade e estabilidade de diversos tipos de resíduos sólidos	KOMILIS e TZIOUVARAS, 2009
Análise da toxicidade de nanopartículas de	SHAH e BELOZEROVA, 2008

---

metal	
Análise da toxicidade de resíduos de efluentes	GINOS <i>et al.</i> , 2006
Análise da toxicidade de solo contaminado por petróleo	BANKS e SCHULTZ, 2005
Análise da toxicidade de solo contaminado com formicida	TIEPO <i>et al.</i> , 2010
Análise da toxicidade do processo oxidativo avançado (POA) de águas contaminadas por toxinas	FREITAS, 2008

---

Este ensaio mostrou-se bastante importante devido a sua ampla aplicabilidade, como mostrado na tabela 3. Cabe salientar também que o ensaio com sementes de alface pode ser realizado com amostras líquidas, assim como também pode ser realizado sobre amostras sólidas, como, por exemplo, amostras de solos contaminados com alguma substância ou mistura complexa.

#### 2.10. Bioensaio com *Daphnia magna*

*Daphnia magna* é um microcrustáceo planctônico de água doce, com tamanho médio de 5 a 6 milímetros. Ele atua na cadeia alimentar aquática como consumidor primário, alimentando-se por filtração de material orgânico particulado, principalmente de algas (KERSTING e HOLTERMANN, 1973). As daphnias são popularmente conhecidas como pulgas d'água.

O princípio deste método consiste na exposição de indivíduos jovens de *Daphnia magna* por um período de 24 a 48 horas a várias diluições de uma amostra, após o qual é verificado seu efeito sobre a capacidade natatória dos organismos, ou seja, sobre sua mobilidade (KNIE e LOPES, 2004).

O cultivo do organismo-teste é realizado segundo as normas ISO 6341 (1996) e DIN 38412(1989). Utilizam-se recipientes com capacidade para 500 mL de meio de cultura M4 (DIN 38412, 1989), meio utilizado para crescimento dos organismos. Os organismos são alimentados, diariamente, com cultura algácea.

Cada lote comporta de 15 a 20 indivíduos, exclusivamente fêmeas. As fêmeas se reproduzem por partenogênese, o que garante que os indivíduos são clones uns dos outros, validando o teste. As culturas são mantidas em ambiente com

temperatura controlada a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Os lotes recebem manutenção duas vezes por semana, quando se realiza uma observação da possível ocorrência de machos ou efípios (ovos resistentes resultantes de reprodução sexuada), troca do meio de cultura, eliminação das mudas e retirada dos filhotes. Mensalmente, a sensibilidade do organismo é avaliada através de um ensaio com a substância de referência dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), dado que enquadra os organismos cultivados na faixa de sensibilidade considerada aceitável para uso na realização dos testes (FLOHR *et al.*, 2005).

As amostras produzidas são testadas em diluições da mesma, por um período de 48 horas, conforme normas pertinentes (ISSO 6341, 1996; DIN 38412, 1989). Após o tempo de prova, observa-se o número de indivíduos imóveis por concentração. A partir destes dados calcula-se a porcentagem de mortalidade por concentração. O resultado do teste é expresso em CE  $(I)_{50}$  48h (Concentração Efetiva Inicial Mediana em 48 horas – concentração da amostra no início do ensaio, que causa efeito agudo a 50% dos organismos em 48 horas, nas condições de ensaio), calculada utilizando-se os métodos estatísticos Probit Method (WEBER, 1993) para dados paramétricos e Trimmed Spearman-Kärber Method (HAMILTON *et al.*, 1977) para os dados não paramétricos.

#### 2.11. Demais bioensaios de ecotoxicidade

O emprego de tantas espécies aptas para bioensaios excede a capacidade de qualquer laboratório, não sendo, portanto, praticável, nem economicamente viável. Por causa disso, começaram a ser selecionados representantes típicos dos grupos mais importantes da biocenose aquática, levando em consideração os diferentes níveis tróficos, como mostra a tabela 4.

**Tabela 4.** Organismos representantes de diferentes níveis tróficos.

<b>Nível Trófico</b>	<b>Organismo representante</b>	<b>Exemplo</b>
<b>Decompositores</b>	Bactérias	<i>Vibrio fischeri</i>
<b>Produtores primários</b>	Algas	<i>Scenedesmus subspicatus</i>
<b>Consumidores primários</b>	Microcrustáceos	<i>Daphnia magna</i> , <i>Artemia salina</i>
<b>Consumidores finais</b>	Peixes	<i>Danio rerio</i>

(KNIE e LOPES, 2004)

O uso das fotobactérias em ensaios ambientais começou, nos anos 60, no âmbito do monitoramento da poluição atmosférica (SERAT *et al.*, 1965). A *Vibrio fischeri* é uma bactéria marinha luminescente. Em condições ambientais favoráveis, essas bactérias emitem luz naturalmente, necessitando para isto oxigênio em concentrações acima de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

O sistema de teste é baseado na medição da luminescência emitida pela bactéria *Vibrio fischeri* após exposição a uma amostra por um período de 15 ou 30 minutos. A intensidade da luz das bactérias na amostra é comparada a de um controle, onde não é adicionada a amostra. Na presença de substâncias tóxicas a bioluminescência diminui, sendo a quantidade de perda de luz proporcional à toxicidade da amostra. O decréscimo da luminosidade acontece em função da inibição dos processos metabólicos das bactérias (KNIE e LOPES, 2004).

A *Scenedesmus subspicatus* é uma alga verde planctônica, representante dos produtores primários nos ecossistemas de água doce. Nesta função, as algas são a base do ciclo de vida na água servindo de alimento para os outros organismos. Por sua importância fundamental na cadeia trófica dos ecossistemas aquáticos, pesquisas básicas com algas já ocorrem há muito tempo como indicadores da poluição aquática. Em geral, as análises com algas para avaliação da qualidade hídrica e de efluentes, bem como da periculosidade de substâncias químicas, se baseiam na observação dos efeitos desses meios sobre o desenvolvimento da biomassa algal.

O princípio do ensaio consiste na exposição de uma suspensão com densidade conhecida de algas *Scenedesmus subspicatus*, juntamente com um meio nutriente, a diversas diluições de uma amostra, por um período de 72 horas sob condições definidas. O efeito é determinado pela comparação da reprodução das algas nas diluições teste, em relação a um controle onde não é adicionado amostra. Durante o tempo de exposição, as algas se multiplicam até três vezes por dia; portanto, trata-se de um teste crônico, pois abrange várias gerações dos organismos (KNIE e LOPES, 2004).

O *Danio rerio* é um peixe tropical de água doce, originário da Ásia. Por ser capaz de adaptar-se facilmente a variadas condições ambientais naturais e artificiais, o dânio foi utilizado já a partir dos anos 30 para pesquisas científicas (CREASER, 1934), sendo um dos peixes mais estudados mundialmente. Por sua

grande capacidade de adaptação e aparência atrativa, é também um peixe ornamental muito popular entre os aquaristas. Esses peixes vivem em média três anos e atingem no máximo 5 centímetros de comprimento. Eles são onívoros, de comportamento pacífico e muito ativos. Na natureza vivem em cardumes, e por isso podem ser mantidos em número relativamente grande num mesmo aquário.

O ensaio de toxicidade aguda com *Danio rerio* baseia-se na exposição de peixes adultos a uma amostra por um período de 48 horas, podendo ser prolongado até 96 horas. Após o tempo de exposição, é determinado, como critério do teste, o número de organismos mortos (KNIE e LOPES, 2004).

### **3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.1. Matrizes estudadas**

O presente trabalho estudou diversos tipos de efluente, com características muito diversas em relação a sua origem. Foram objetos de estudo: efluente doméstico, industrial, hospitalar, vinícola e lixiviado. A seguir, descreve-se tais matrizes de estudo de forma mais detalhada.

#### **3.2. Efluentes Doméstico e Lixiviado**

Geralmente, os efluentes são submetidos a distintos processos de tratamento, os quais podem ocorrer através do emprego de processos biológicos unitários (METCALF & EDDY, 1991), que são métodos de tratamento nos quais a remoção de contaminantes ocorre por meio de atividade biológica.

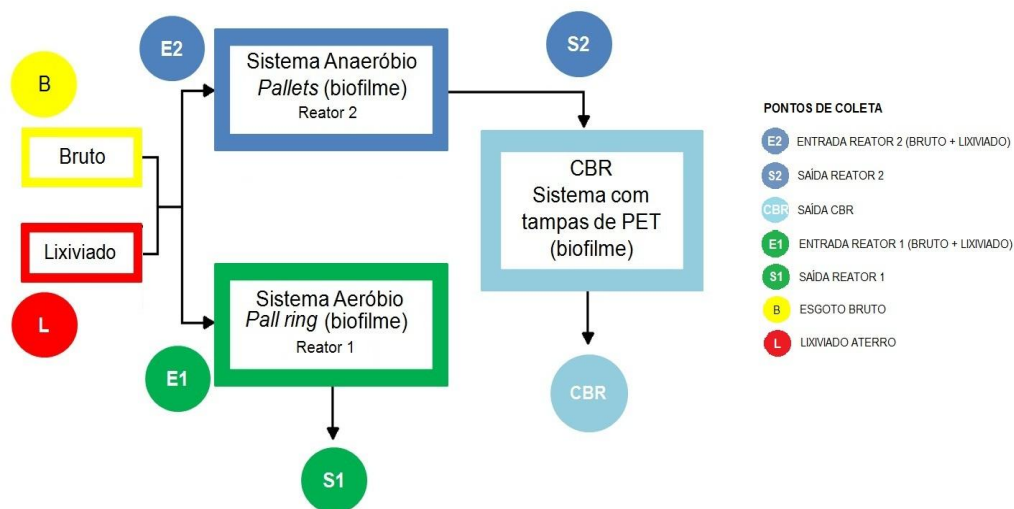
Os efluentes estudados foram procedentes de um sistema piloto construído dentro da estação de tratamento de esgoto sanitário da cidade de Canoas, sob responsabilidade do grupo de pesquisa do prof<sup>o</sup> Dr. Olinto Monteggia do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da UFRGS (IPH/UFRGS). Esta estação piloto utiliza dois tipos de tratamento: um baseado no tratamento mediante um sistema aeróbio no qual a DBO é estabilizada aerobiamente por bactérias que crescem aderidas a um meio suporte chamado de *pall rings* (pequenos anéis de poliestireno). A amostra é conduzida ao tanque de tratamento com auxílio de uma bomba, e flui em um fluxo ascendente dentro do bioreator, ao passo que a matéria orgânica biodegradável é degradada pela ação de um consórcio de microorganismos. Os espaços livres entre

os suportes são vazios, o que permite a entrada de ar e, portanto, o crescimento de microorganismos aeróbios.

O outro sistema ainda em estudo emprega um sistema anaeróbio com biofilmes em *pallets*. Este sistema também utiliza suportes, os *pallets* que têm o formato de pequenas esferas maciças feitas com material polimérico. Nele, os microorganismos ficam aderidos na superfície, onde a DBO é estabilizada anaerobiamente pelos microorganismos que compõem os biofilmes aderidos aos *pallets* (VON SPERLING, 1995).

Neste caso, um objetivo adicional do trabalho foi comparar, mediante ensaios toxicológicos, a eficácia de ambos sistemas de tratamento.

Nesta estação piloto, foram coletadas sete amostras, em diferentes pontos de amostragem, como mostrado na figura 5, que apresenta também como as amostras foram nomeadas. As coletas realizaram-se durante o período da manhã, nos dias 7 de abril e 16 de maio de 2011.



**Figura 5.** Fluxograma do sistema piloto de tratamento de esgoto sanitário (ETE) do IPH/UFRGS em Canoas.

O outro efluente doméstico que foi foco de estudo foi proveniente de uma outra ETE que emprega o processo de lagoas aeradas. Neste processo a demanda bioquímica de oxigênio (DBO) solúvel e finamente particulada é estabilizada aerobiamente por bactérias dispersas no meio líquido, ao passo que a DBO

suspensa tende a sedimentar, sendo estabilizada anaerobiamente por bactérias no fundo da lagoa. O oxigênio deste processo é fornecido por aeradores mecânicos.

Foram coletadas duas amostras, o efluente urbano bruto e o efluente após o tratamento. Esta amostra foi coletada em 16 de maio de 2011, e foi nomeada como Entrada Lagoas Aeradas – Efluente Urbano (ELA-EU) e Saída Lagoas Aeradas – Efluente Urbano (SLA-EU).

### 3.3. Efluente Industrial

As amostras de efluente industrial são provenientes de uma empresa do ramo automotivo, as quais são rotineiramente tratadas na própria ETE da indústria mediante um processo de lodos ativados. Foram coletadas amostras na entrada e na saída da ETE, no dia 27 de abril de 2011. A amostra de entrada foi nomeada como Efluente Industrial Bruto (IB) e a tratada Efluente Industrial Tratado (IT).

### 3.4. Efluente Vinícola

A amostra de efluente vinícola é proveniente de uma vinícola localizada na região serrana do RS. Este tipo de efluente é caracterizado por ser muito dinâmico e conter diversos compostos. O efluente possui alta carga orgânica, baixo pH, muitos compostos fenólicos, ácidos orgânicos, entre outros (RODRIGUES *et al.*, 2006). Esta amostra, que não foi submetida a nenhum tratamento prévio, foi coletada em 8 de maio de 2011 e nomeada como Efluente Vinícola (V).

### 3.5. Efluente Hospitalar

O efluente hospitalar foi coletado em um centro sanitário em 16 de maio de 2011. Esta amostra, igualmente ao efluente vinícola, não recebe nenhum tratamento prévio e possui como principal característica a presença de uma ampla gama de fármacos que podem apresentar um elevado potencial contaminante associado a uma elevada toxicidade para a biota aquática (CHRISTENSEN *et al.*, 2009). A amostra recebeu o nome de Efluente Hospitalar (H).

### 3.6. Caracterização física e química das matrizes estudadas

Alguns parâmetros físicos e químicos foram determinados, nas amostras utilizadas, visando melhor caracterização de cada sistema de estudo. Os parâmetros

analisados são descritos na seqüência. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Ambiental da Universidade de Caxias do Sul e no Laboratório de Análises Químicas do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da UFRGS. A autora deste TCC acompanhou alguns procedimentos não tendo realizados-os diretamente devido à limitação do tempo disponível para realizar o trabalho.

### 3.6.1. pH e Alcalinidade

O pH corresponde à quantidade de íons  $H^+$  presentes na amostra. Este parâmetro foi determinado com eletrôdo de vidro, modelo medidor de pH TPH-2, marca TESTA Tecnologia Eletrônica.

A alcalinidade total foi determinada pelo método de titrimetria, segundo APHA (2320-B). O método consiste basicamente em uma titulação com NaOH, utilizando indicador adequado. O procedimento é realizado sobre uma superfície branca, para melhor visualização, até que a cor do ponto de equivalência se mantenha.

### 3.6.2. Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A DQO corresponde à quantidade de oxigênio consumida na oxidação química da amostra pelo dicromato de potássio em meio fortemente ácido, a temperaturas elevadas e na presença de catalisador.

A determinação da DQO foi realizada de acordo com metodologia padrão descrita em APHA (5220-D, 1995). O procedimento consiste basicamente na digestão da amostra em tubo fechado seguida de determinação colorimétrica em 600 nm. As curvas de calibração foram construídas entre 50 e 900  $mg L^{-1}$ , utilizando-se padrões de biftalato de potássio.

A metodologia foi validada empregando-se biftalato de potássio 300  $mg L^{-1}$  e desvios de até 10% foram considerados aceitos nas triplicatas realizadas.

A figura 6 mostra o digestor para DQO com a temperatura padrão e duas amostras após digestão com  $K_2Cr_2O_7$ : a primeira com dicromato remanescente e a segunda sem a presença do mesmo





**Figura 6.** Digestor para DQO e tubos após digestão com  $K_2Cr_2O_7$ : dicromato remanecente e dicromato consumido.

### 3.6.3. Nitrogênio Amoniacal e NKT

Utilizou-se o método Kjeldhal (Macro-Kjeldhal) para determinação do nitrogênio orgânico e do nitrogênio amoniacal presente no efluente. O procedimento empregado foi o descrito em APHA (4500-NH<sub>3</sub>, Método Titulométrico, 1995).

A amostra foi colocada em balão de destilação no Destilador Kjeltec, tratada com tiosulfato de sódio em meio alcalino. A amônia (NH<sub>3</sub>) foi recebida em ácido bórico e titulada com ácido sulfúrico. A figura 7 mostra à esquerda o sistema de digestão das amostras e à direita o destilador Kjeltec.



**Figura 7.** Sistema de digestão com lavagem de gases e destilador Kjeltec.

### 3.7. Avaliação Ecotoxicológica das matrizes estudadas

A avaliação ecotoxicológica é, atualmente, um dos parâmetros mais importantes a ser monitorado durante o tratamento de resíduos líquidos. A resolução nº 357 da CONAMA, de 17 de março de 2005, descreve no Artigo 34 que os efluentes, antes de serem lançados nos rios, devem ser submetidos a testes ecotoxicológicos a fim de determinar a toxicidade deste resíduo. Os ensaios da *Artemia salina* e da *Lactuca sativa* foram escolhidos devido ao baixo custo e por serem operacionalmente muito práticos e simples, dispensando a uso de materiais caros ou infra-estrutura complexa (MEYER *et al.*, 1982).

#### 3.7.1. Determinação da toxicidade aguda frente a *Artemia salina*

O ensaio foi realizado de acordo com a descrição de MEYER *et al.* (1982). Os cistos produzidos pela *Artemia salina* podem ser facilmente adquiridos em lojas especializadas em artigos para aquários. Estes cistos, após abertos, devem ser utilizados em, no máximo, dois meses. Caso isso não aconteça, podem ser congelados por tempo indeterminado.

Uma solução de água do mar artificial foi preparada a partir de uma mistura de sais, também encontrada nas lojas de aquários. A solução marinha artificial com salinidade 35‰ foi preparada pesando 35 g de sal marinho artificial, da marca Sera, dissolvendo o sal em aproximadamente 500 mL de água. Após dissolução o volume foi completado a 1 L.

O controle negativo do teste é feito com dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ). A solução de  $K_2Cr_2O_7$  foi preparada pesando 0,0500 g e dissolvendo em um volume de 50 mL, resultando numa solução amarela de 100 ppm. A partir desta solução, foram preparadas as soluções 10 ppm, 1 ppm, 0,1 ppm e 0,01 ppm. O ensaio somente poderá ser validado se a mortalidade for de, pelo menos, 80%. O controle positivo é feito apenas com água marinha artificial, e a mortalidade não deve exceder 10%.

As vidrarias utilizadas, como funil de separação, béqueres, pipetas foram previamente lavadas com detergente e enxaguadas várias vezes com água destilada. É importante ressaltar que não foi passado solvente, pois estes podem interferir nas análises.

Os cistos de *Artemia salina* foram colocados em 250 mL de água marinha, previamente aerada com bomba de ar de aquário, dentro de um funil de separação, como mostra a figura 8. Após 48h os cistos já haviam eclodido e liberado as larvas náuplios.

Com auxílio de uma pipeta pasteur, trinta artemias foram transferidas para um frasco pequeno contendo 2,5 mL de água marinha e 2,5 mL da amostra ou do controle. Após, dez artemias são retiradas deste frasco e colocadas em um segundo contendo a mesma quantidade de água do mar e amostra. O mesmo procedimento foi realizado com mais dois frascos, completando a triplicata. Isso é realizado para diminuir o efeito de diluição da amostra que ocorre quando as artemias são colocadas em contato com a mesma. Os frascos foram cobertos com filme plástico e incubados por 48 horas. Após o tempo de incubação, as larvas foram contadas entre mortas ou vivas. Consideram-se mortas todas as que não apresentarem qualquer movimento após 10 segundos de observação.



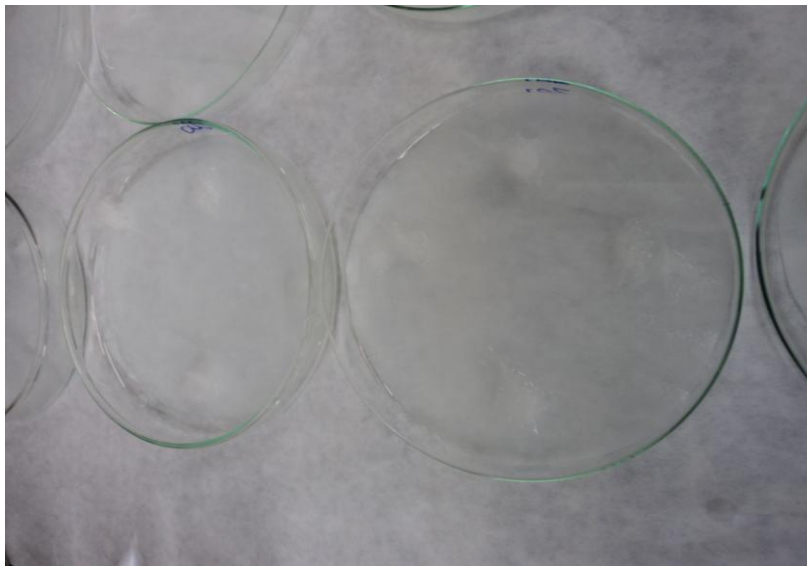
**Figura 8.** Local de eclosão e cultivo das larvas de *Artemia salina*.

### 3.7.2. Determinação da toxicidade aguda frente a *Lactuca sativa*

As sementes de *Lactuca sativa*, comumente conhecida como alface, também são facilmente encontradas, em estabelecimentos agropecuários ou em grandes mercados. Estas sementes não receberam nenhum tratamento prévio.

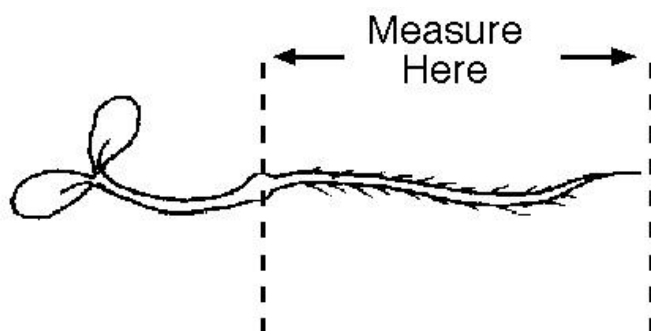
O procedimento é realizado de acordo com a literatura (KEDDY *et al.*, 1995). O controle positivo deste ensaio é feito com água destilada. O controle negativo é feito com NaCl. Para a solução salina de NaCl pesou-se 2,922 g do sal, que foi dissolvido em um volume de 250 mL, resultando numa solução com concentração 0,2 M. A partir desta solução foram preparadas soluções diluídas, nas seguintes concentrações: 0,1 M; 0,075 M; 0,05 M e 0,025 M. Pelo menos 80% das sementes devem germinar no controle positivo. Já no controle negativo, o crescimento da raiz deve diminuir conforme aumento da concentração do cloreto de sódio.

Foram utilizadas placas de Petri grandes, previamente lavadas com água destilada e secas. No fundo da placa foi colocado papel filtro comum do tamanho da mesma. Sobre o papel, colocaram-se quatro chumaços de algodão embebidos em água destilada, para garantia de umidade no processo, como mostra a figura 9. Foram adicionados 7 mL de amostra ou controle e após adicionou-se em média 10 sementes de alface bem distribuídas, para que pudessem crescer e se desenvolver sem obstáculos. As placas foram cobertas com filme plástico e colocadas em ausência de luz durante cinco dias.



**Figura 9.** Preparação do ensaio com sementes de alface.

Após o período dos cinco dias, foi feita a contagem de quantas sementes germinaram em cada placa e foram feitas as medidas dos comprimentos das raízes em centímetros, como mostra a figura 10. Os ensaios foram feitos em triplicata.



**Figura 10.** Demonstração da medição da raiz da semente de alface.

Este bioensaio foi escolhido por apresentar a melhor resposta, quando comparado com outros organismos, frente à toxicidade, associado à simplicidade operacional, baixo custo e eficiência (PANDARD, 2006).

Todos os bioensaios foram realizados em triplicata de amostra, em todos os níveis de diluição. Portanto, para cada amostra 12 placas de petry foram utilizadas para contemplar todas as diluições e suas triplicatas.

Com relação aos ensaios com a *Artemia salina* 12 tubos de ensaio foram utilizados para cada amostras a fim de contemplar todas as diluições e suas respectivas triplicatas.

Para cada organismo utilizado nos bioensaios foram realizados aproximadamente 330 experimentos, todos descritos no Anexo 1.

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A discussão dos resultados obtidos foi dividida em grupos para a melhor contextualização dos dados relacionados aos diferentes efluentes avaliados.

O primeiro conjunto de amostras foi coletado na estação piloto de tratamento de efluentes urbanos, localizada na cidade de Canoas. Elas foram produzidas a partir de dois processos de distintos; em um deles foi utilizado tratamento anaeróbio seguido de aeróbio e o outro apenas utiliza um processo de tratamento aeróbio. Os dois processos utilizam diferente tipo de suporte para fixação da biomassa. O

primeiro faz uso de *pallets*, que são pequenas esferas de material polimérico e o segundo utiliza *pall rings*, que são pequenos anéis de poliestireno.

O segundo grupo de amostras é composto por efluentes variados, ou seja, oriundos de sistemas distintos. Neste caso, o objetivo foi comparar a toxicidade destes sistemas distintos, uma vez que todos constituem efluentes rotineiramente lançados no ambiente. Quando foi o caso, as comparações foram realizadas antes e após o processo de tratamento empregado.

Na figura 11 está a representação da classificação dos dois grupos de efluentes, conforme descrito acima.



**Figura 11.** Representação dos dois grupos de efluentes avaliados.

#### 4.1. Caracterização física e química das matrizes estudadas

As matrizes estudadas foram analisadas com relação aos parâmetros físicos e químicos para a melhor caracterização das mesmas. Estes parâmetros foram: pH, alcalinidade, nitrogênio amoniacal e DQO. A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para estes parâmetros nas diferentes amostras.

**Tabela 5.** Parâmetros físicos e químicos das diferentes amostras utilizadas para a realização dos bioensaios.

	<b>Amostras</b>	<b>pH</b>	<b>Alcalinidade (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>N-NH<sub>3</sub> (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>DQO (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Grupo 1 – Primeira coleta</b>	E2	7,81	984,9	149,1	368,9
	S2	7,02	550,7	74,6	2587,1
	CBR	7,31	494,5	35,0	1941,7
	E1	7,81	984,9	149,1	368,9
	S1	7,07	607,0	57,7	2252,4
	B	7,07	460,3	81,1	155,3
	L	8,37	4830,0	903,7	1482,0
<b>Grupo 1 – Segunda coleta</b>	E2'	8,14	817,3	121,3	334,9
	S2'	8,33	860,4	132,6	315,8
	CBR'	8,46	785,9	127,5	264,0
	E1'	8,23	883,9	137,3	62,1
	S1'	8,31	913,4	139,4	343,2
	B'	7,85	219,5	24,7	63,4
	L'	8,45	5448,8	956,7	1512,1
<b>Grupo 2</b>	IB	2,02	0,0	268,1	6504,9
	IT	7,02	271,4	40,1	181,2
	EV	3,34	0,0	0,0	42985,1
	EHB	7,54	370,4	71,4	358,2
	ELA-EU	7,51	297,9	64,3	62,1
	SLA-EU	6,16	23,5	8,0	96,4

( ' ) refere-se a segunda coleta nos mesmos pontos

Rreator 1); **B** (Efluente Bruto); **L** (Lixiviado); **IB** (Efluente Industrial Bruto); **IT** (Efluente Industrial Tratado); **EV** (Efluente Vinícola); **EHB** (Efluente Hospitalar Bruto); **ELA-EU** (Entrada Lagoas Aeradas - Efluente urbano); **SLA-EU** (Saída Lagoas Aeradas - Efluente Urbano).

O pH ou potencial hidrogeniônico, está relacionado à concentração de hidrogênio das amostras. Uma variação significativa deste parâmetro nas amostras analisadas pode afetar os microrganismos responsáveis pelo tratamento biológico dos efluentes.

Os valores de pH das amostras da estação piloto apresentaram baixo coeficiente de variação em torno do pH 7 (CV% = 6,9 para a primeira coleta e CV% = 2,6 para a segunda coleta).

Com relação às amostras do grupo 2 a variação de pH é maior caracterizando amostras de procedência bastante diferenciada. O efluente industrial bruto e o efluente da vinícola são os que apresentaram os menores valores de pH (2,0 e 3,3, respectivamente). Vários são os fatores que podem estar contribuindo para isso. De acordo com RODRIGUES (2006) e GUERRA (2001), baixos valores de pH para este tipo de amostra, podem estar relacionados com a alta concentração de compostos fenólicos e ácidos orgânicos. Com relação ao IB, constata-se que após o tratamento, o valor de pH fica próximo a 7,0. O mesmo ocorre para o ELA-EU que após o tratamento tem o pH reduzido para próximo de 7,0.

Alcalinidade é um parâmetro que tem uma relação direta com o pH e indica os íons na água disponíveis para neutralizar os íons hidrogênio. Os principais íons indicados como responsáveis pela alcalinidade são: bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) e os hidróxidos ( $\text{OH}^-$ ). Os efluentes que apresentam uma alta alcalinidade associada com pH elevado, excesso de dureza e de sólidos dissolvidos, são considerados prejudiciais ao meio ambiente aquático natural. Por outro lado, baixos valores de alcalinidade ( $< 20 \text{ mg L}^{-1}$ ) podem levar a mudanças bruscas no pH, favorecendo que este tenha valores muito baixos, e como consequência a amostra apresente características prejudiciais e, até mesmo tóxicas, à biota aquática presente nas águas naturais (VON SPERLING, 1995).

Os valores de alcalinidade variaram entre 23,5 e 984,5  $\text{mg L}^{-1}$ , tendo como exceções as amostras do efluente bruto tratado e da vinícola (com valor de zero para ambas) e do lixiviado tanto da primeira como da segunda coleta (4830,0 e 5448,8  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente).

O Nitrogênio amoniacal é um parâmetro muito importante e de significado expressivo no âmbito sanitário, pois uma alta concentração desta forma de nitrogênio indica poluição recente (VON SPERLING, 1995). A amônia é uma substância tóxica não persistente e não cumulativa e sua tipicamente baixa concentração não afeta ao homem nem os mamíferos em geral. No entanto, águas com alta concentração de amônia podem acarretar mortes por asfixia dos peixes, devido à redução da capacidade de transporte de oxigênio do sangue destes

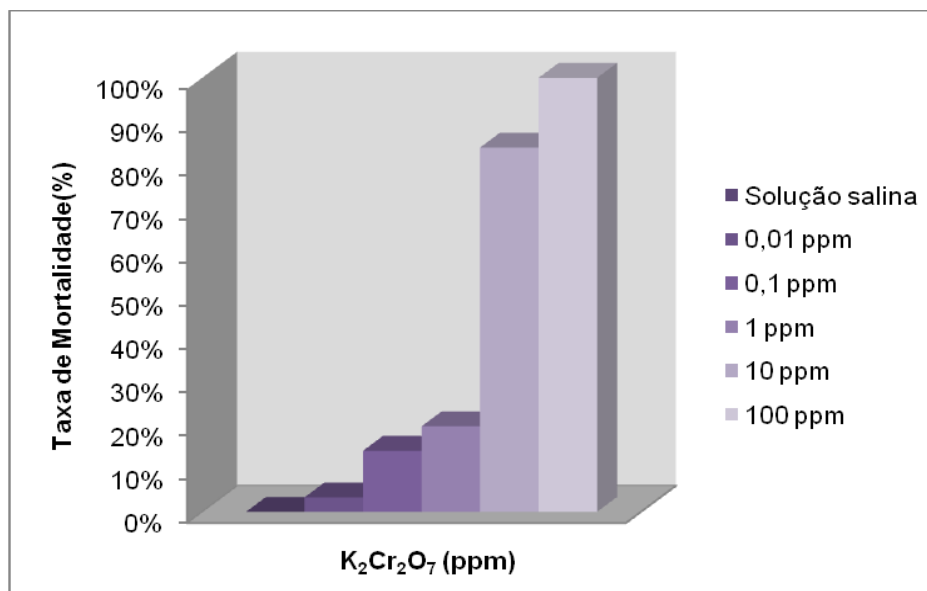


animais. Outro problema associado a altas concentrações de amônia em águas residuárias é interação da amônia com o cloro, que pode afetar a eficiência da desinfecção da água (MCNEELY *et al.*, 1979). A amostra que apresentou maior valor para este parâmetro foi o lixiviado ( $900 \text{ mg L}^{-1}$ ).

A Demanda Química de Oxigênio (DQO) mede o consumo de oxigênio ocorrido durante a oxidação química da matéria orgânica. O valor obtido é, portanto, uma indicação indireta do teor de matéria orgânica presente, e quanto maior a quantidade desta matéria orgânica, maior será o consumo de oxigênio. Grande variação neste parâmetro foi encontrada nas amostras, devido à grande quantidade de matéria orgânica presente durante os processos de tratamento.

#### 4.2. Bioensaios frente à *Artemia salina*

Durante os ensaios com *Artemia salina* foram realizados controles com dicromato de potássio em diversas concentrações. Este controle é fundamental, pois mostra a sensibilidade do micro crustáceo frente a uma solução tóxica. A figura 12 mostra um crescimento da mortalidade dos micro-crustáceos conforme aumento da concentração de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ .

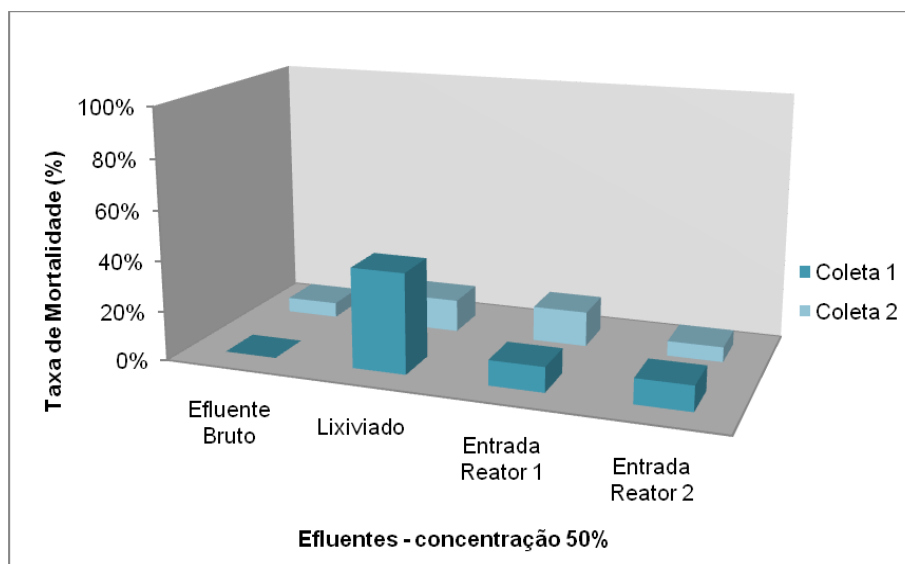


**Figura 12.** Controle do bioensaio da *Artemia salina* em solução aquosa de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), em diferentes concentrações.

Os ensaios frente à *Artemia salina* das amostras oriundas da estação piloto foram realizados na concentração de 50%, pois algumas amostras apresentaram coloração muito intensa, o que dificultaria a contagem dos micro-crustáceos.

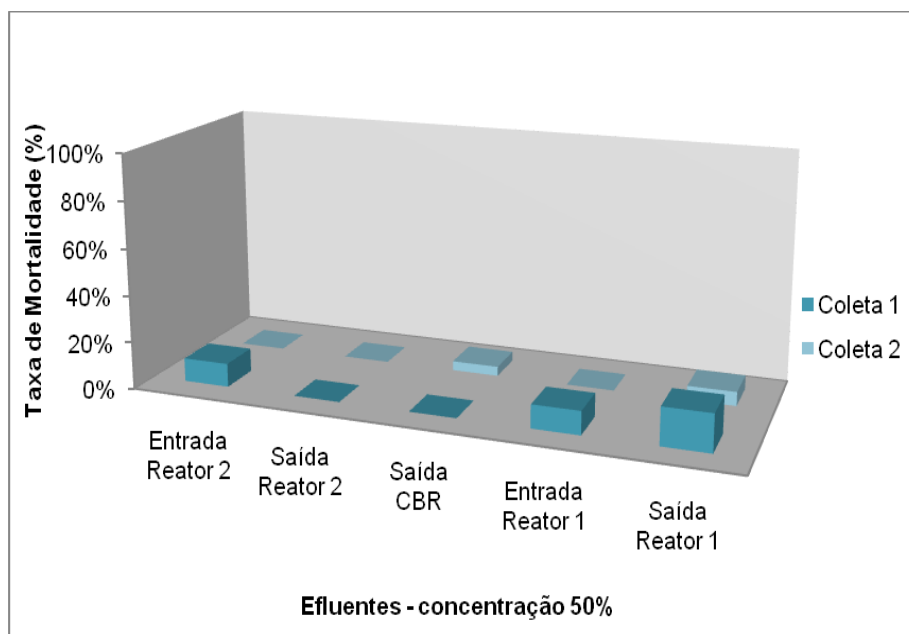
A figura 13 apresenta uma comparação entre a toxicidade das amostras de entrada da estação piloto, ou seja, Efluente Bruto, Lixiviado, Entrada Reator 1 e Entrada Reator 2.

Observou-se baixa mortalidade no Efluente Bruto e nas entradas para os reatores, entre zero e 10%. Entretanto, o Lixiviado, em concentração 50%, apresentou 40% de mortalidade, o que implica dizer que na sua concentração real (100%) este resíduo provavelmente se mostraria tóxico. Para confirmação desta possibilidade foi feita análise desta amostra sem diluição, e esta apresentou mortalidade de 97%. Este resultado classificou a amostra de Lixiviado como muito tóxica para o organismo avaliado. Este dado é confirmado quando relacionado aos dados da caracterização físico-química, como, por exemplo, o nitrogênio amoniacal que foi extremamente alto para o Lixiviado.



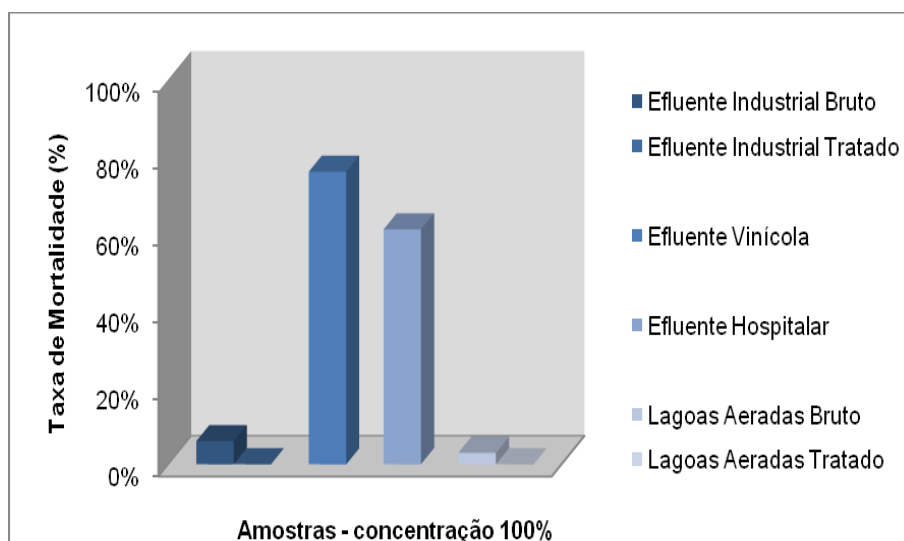
**Figura 13.** Taxa de Mortalidade do micro crustáceo *Artemia salina* para efluentes de entrada da estação de tratamento piloto, com diluição de 50%.

Realizou-se comparação entre os diferentes sistemas utilizados para tratamento de efluentes nesta estação piloto, para isso a figura 14 ilustra os resultados da taxa de mortalidade da *Artemia salina* frente os dois sistemas utilizados na estação piloto. Nenhuma destas amostras apresentou sinais de toxicidade para a *Artemia salina*. Observou-se um pequeno crescimento de aproximadamente 6%, na toxicidade para o Reator 1. Todavia, ambas as amostras analisadas não podem ser consideradas tóxicas já que a percentagem de mortalidade manteve-se, nos dois casos, inferior a 50% (HISEM *et al.*, 2011).



**Figura 14.** Taxa de Mortalidade do micro crustáceo *Artemia salina* para os efluentes da estação de tratamento piloto.

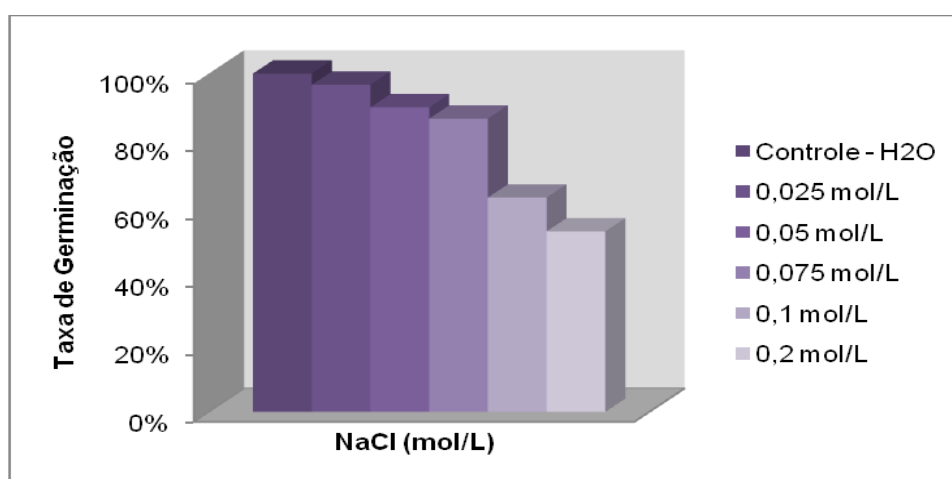
Os resultados relativos às demais amostras estudadas estão apresentados na figura 15, a qual ilustra a Taxa de Mortalidade para estas amostras e demonstra que o Efluente Vinícola e o Efluente Hospitalar apresentaram elevada toxicidade para a *Artemia salina*. No caso do efluente vinícola, estes resultados podem estar relacionados com a presença de diversos compostos orgânicos como, por exemplo, compostos fenólicos gerados durante o processo de fermentação da uva e durante a maturação do vinho (RODRIGUES *et al.*, 2006). No caso do efluente hospitalar, esta toxicidade pode estar relacionada com a presença de fármacos, como, por exemplo, antibióticos, antiinflamatórios, etc (EMMANUEL, 2002).



**Figura 15.** Taxa de Mortalidade do micro crustáceo *Artemia salina* frente aos demais efluentes estudados.

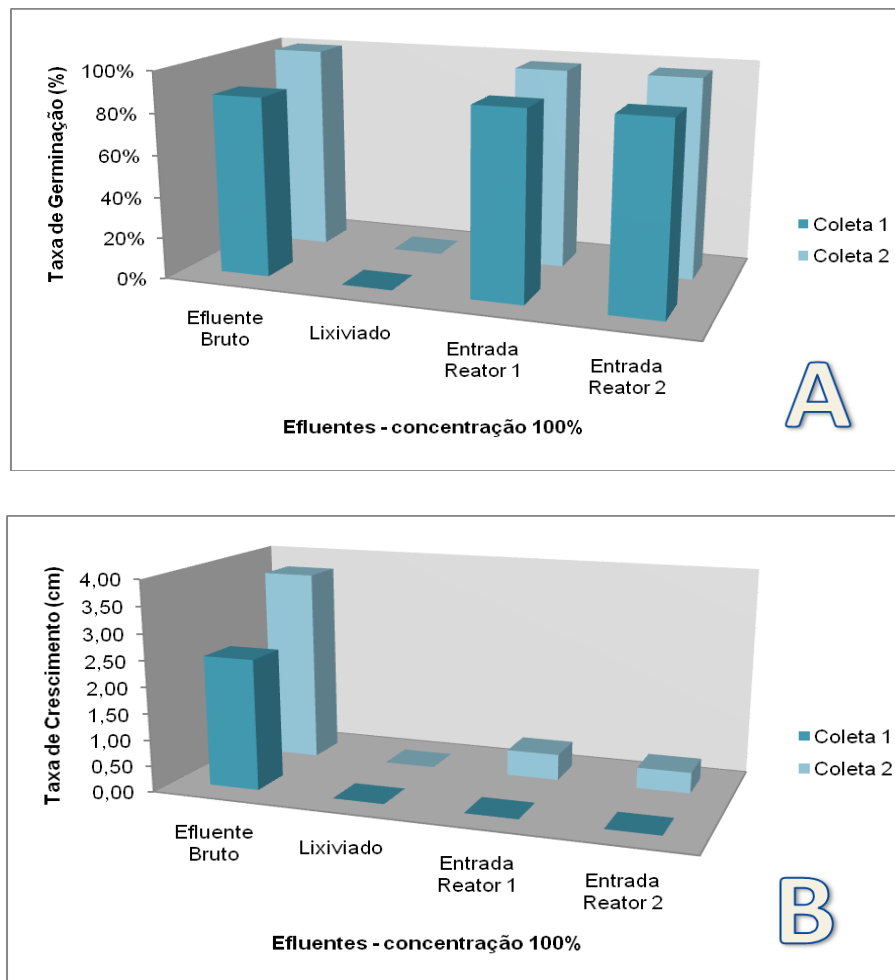
#### 4.3. Bioensaios frente à *Lactuca sativa*

O controle negativo no ensaio com sementes de *Lactuca sativa* foi realizado com distintas concentrações de NaCl, e tem por finalidade avaliar a sensibilidade destas sementes, ou seja, o crescimento da raiz deve diminuir conforme aumento da concentração do sal. Para ilustração, a figura 16 mostra esta variação do crescimento e validação dos ensaios com sementes de alface.



**Figura 16.** Controle do bioensaio com sementes de *Lactuca sativa*.

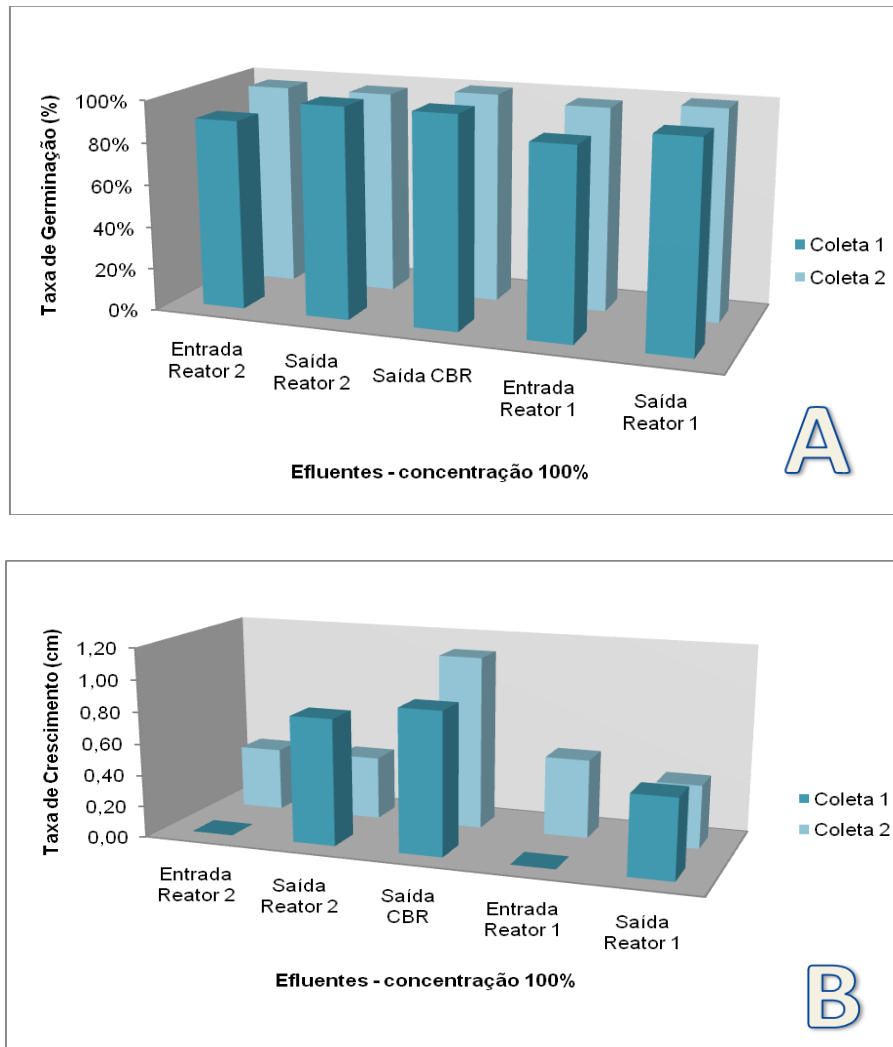
Este bioensaio avalia dois parâmetros simultaneamente, a taxa de germinação das sementes e a taxa de crescimento de raiz. Os dois parâmetros devem ser considerados separadamente, porém serão ilustrados em conjunto (figura 17A e B) para sua comparação.



**Figura 17.** Efluentes de entrada da estação piloto. **A:** Taxa de germinação da *Lactuca sativa* **B:** Taxa de Crescimento de raiz de sementes de *Lactuca sativa*.

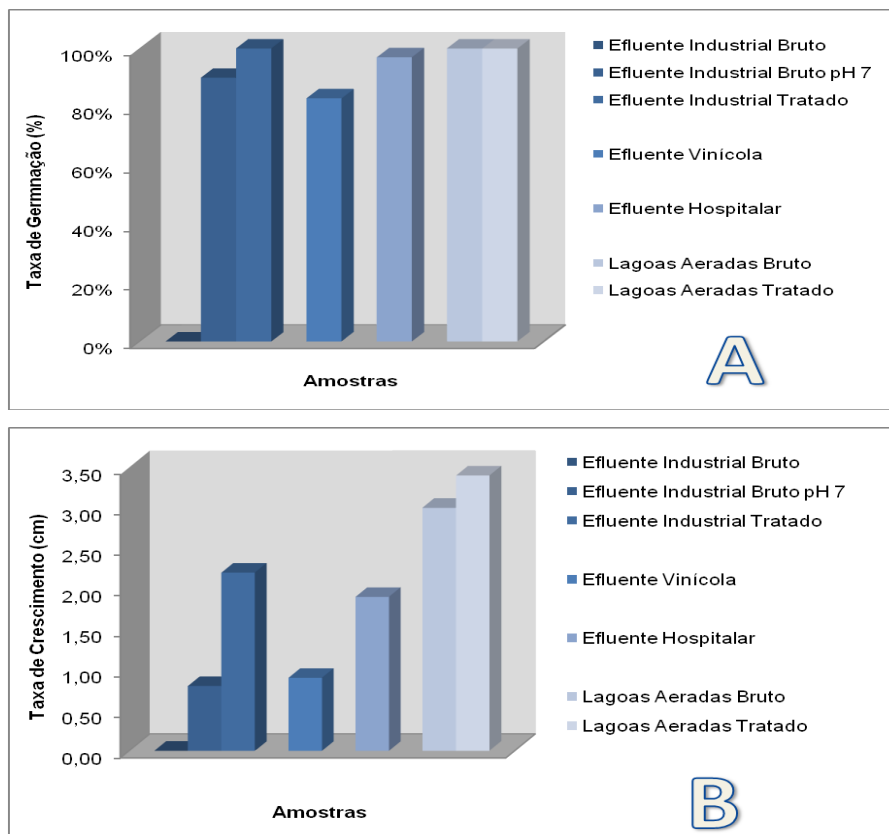
A taxa de germinação dos efluentes de entrada foi aproximadamente 100%, exceto para o lixiviado que não apresentou germinação mostrando, novamente, que esta matriz é bastante tóxica, como mostra a figura 17A. Conseqüentemente, a taxa de crescimento também foi zero. A figura 17B mostra que o Efluente Bruto teve sua taxa de crescimento de raiz alta nas duas coletas, entretanto a mistura entre Efluente Bruto e Lixiviado (Entrada Reator 1 e 2) apresentou um valor muito baixo, indicando assim que esta amostra apresentava toxicidade para a *Lactuca sativa*.

Assim como no ensaio da *Artemia salina*, os resultados dos ensaios de toxicidade para a *Lactuca sativa*, das amostras de efluentes da estação piloto foram agrupados de acordo com o tratamento realizado. A figura 18A ilustra a taxa de germinação das sementes. Pode-se observar que todos estes efluentes apresentaram valores de taxas de germinação próximos de 100%. Entretanto, a figura 18B mostra que o crescimento de raiz não foi significativo para nenhuma das amostras, quando o maior crescimento foi em torno de 1,0 cm para Saída CBR. Sugere-se então que estas matrizes apresentam toxicidade média em relação a este ensaio, quando comparado ao controle positivo do ensaio, onde o crescimento da raiz das sementes foi em média 3,5 cm.



**Figura 18.** Efluentes da estação piloto. **A:** Taxa de germinação de sementes de *Lactuca sativa* **B:** Taxa de Crescimento de raiz de sementes de *Lactuca sativa*.

A Figura 19A apresenta taxa de germinação para as demais amostras estudadas. Observa-se que a única amostra que apresentou taxa de germinação abaixo de 80% foi a do efluente industrial bruto com o pH natural. Neste caso, essa toxicidade elevada foi atribuída ao baixo pH que a amostra apresentou no início. Para fins de comparação e como recomendado no procedimento experimental do ensaio de ecotoxicidade, ajustou-se o pH da matriz para 7,0. Após este procedimento de correção do pH, observou-se uma taxa de germinação de 85%.



**Figura 19.** Efluentes distintos. **A:** Taxa de germinação de sementes de *Lactuca sativa* **B:** Taxa de Crescimento de raiz de sementes de *Lactuca sativa*.

A figura 19B ilustra a taxa de crescimento da raiz das sementes de alface para as demais amostras. O controle positivo realizado com H<sub>2</sub>O apresentou germinação de 100% e um crescimento de raiz de 3,5 cm. Observa-se um baixo crescimento, em torno de 1,0 cm, nas matrizes Efluente Industrial Bruto pH 7 e Efluente vinícola, logo, apesar de, nestas, terem apresentado boa taxa de germinação, apresentaram uma toxicidade média. O Efluente Industrial Tratado

apresentou uma boa taxa de crescimento de raiz, e observou-se um crescimento nesta taxa quando comparando este efluente bruto e tratado. Ambos efluentes: Lagoas Aeradas Bruto e Tratado apresentaram boa taxa de crescimento com valores próximos de 3,5 cm, e também apresentaram crescimento desta taxa após tratamento. A amostra Efluente Hospitalar apresentou valor médio, próximo de 2,0 cm, e não apresentou toxicidade frente a este ensaio.

#### 4.4. Reprodutibilidade dos ensaios

Os bioensaios foram realizados com, no mínimo, 4 diluições para que se pudesse avaliar a sensibilidade dos organismos, reagindo de maneira mais amena frente às soluções mais diluídas e, se tóxica, de maneira mais agressiva em relação à amostra real.

Para cada amostra, com suas respectivas diluições, foram realizadas triplicatas, exceto quando foram realizadas duplicatas devido à limitação da infraestrutura disponível no laboratório, tipicamente no caso de limitação de vidrarias, uma vez que os bioensaios deveriam ser realizados o mais rápido possível após a coleta das amostras. Todos os dados dos bioensaios estão apresentados no Anexo 1 sob a forma de tabela.

A partir dos dados em triplicata, calcularam-se os desvios padrão (DP) para cada amostra, os quais estão apresentados na tabela no Anexo 1. A partir dos dados de desvio padrão pôde-se avaliar a reprodutibilidade do bioensaio e ainda a robustez do mesmo.

Em relação ao bioensaio com *Artemia salina*, considera-se que o ensaio com este organismo apresentou boa reprodutibilidade, pois o DP máximo foi de 10% para concentração 0,01 ppm de um dos controles com dicromato de potássio. Os demais experimentos apresentaram valores de DP entre 0 e 6%, o que representa menos de uma artemia por experimento.

O bioensaio com *Lactuca sativa* apresentou dados de DP máximo de 15% referente à taxa de germinação. Este valor é relativamente baixo quando comparado ao controle feito com NaCl e água destilada, que apresentaram valores em torno de 6%. O DP determinado para o crescimento da raiz das sementes variou de 0,0 a 0,6 cm, e também estão de acordo com os valores obtidos para os controles.



#### 4.5. Considerações finais

A implementação e validação dos dois bioensaios propostos mostraram que ambos bioensaios são simples, reprodutíveis e robustos. A simplicidade pode ser observada ao comparar-se o procedimento realizado com o procedimento descrito na literatura com relação a um dos ensaios mais utilizados que é o da *Daphnia magna*. Nos ensaios propostos neste trabalho não houve necessidade de cultivo nem de alimentação dos organismos, reduzindo consideravelmente o tempo e o custo total. A reprodutibilidade pode ser verificada nas triplicatas realizadas. Os coeficientes de variação das amostras em diferentes diluições são apresentados na tabela apresentada no Anexo 1, onde se observa que os valores ficaram entre 0 e 12% para a *Artemia salina* e 0 e 15% para taxa de germinação das sementes.

No que diz respeito à robustez, pode-se comprovar quando da utilização de amostras diversificadas, que foram desde efluentes domésticos, hospitalares e industriais diversos. Em todos os casos a reprodutibilidade sempre foi muito boa (tabela do Anexo 1)

Com relação aos parâmetros físicos e químicos, esperava-se poder correlacioná-los com os dados de ecotoxicidade obtidos. No entanto, a análise dos dados apresentados na tabela 5, mostrou não haver uma relação direta entre estes dados. Apenas para as amostras de lixiviado pode-se verificar que além de ter sido a mais tóxica também foi a que apresentou os mais altos valores para os parâmetros físicos e químicos determinados neste estudo.

## 5. CONCLUSÃO

Diferentes amostras de efluentes foram estudadas a fim de validar os ensaios de ecotoxicidade do micro crustáceo *Artemia salina* e das sementes de *Lactuca sativa* para amostras de relevância ambiental como são as amostras de efluente estudadas neste trabalho. A amostra Lixiviado apresentou elevada toxicidade frente aos dois organismos. As demais amostras da estação de tratamento piloto não apresentaram toxicidade frente à *Artemia salina*, contudo frente à *Lactuca sativa* apresentaram uma inibição muito discreta no crescimento das raízes em relação ao controle de água destilada. As amostras do Efluente Vinícola e do Efluente

Hospitalar apresentaram elevada toxicidade frente à *Artemia salina* com a mortalidade de 60 a 80% dos organismos-teste, e uma toxicidade menos pronunciada frente à *Lactuca sativa*; logo podem ser consideradas tóxicas. As amostras do efluente doméstico bruto e tratado mediante Lagoas Aeradas não apresentaram toxicidade para ambos bioensaios.

Além disso, o estudo das amostras de efluentes que foram o foco deste trabalho permite considerar que ambos bioensaios são tecnicamente simples já que não exigem uma infra-estrutura sofisticada e economicamente mais acessíveis que os bioensaios comumente referenciados na literatura.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, N. C. Estudo sobre ecologia de *Artêmia salina*. São Paulo: Nobel, 1980.

Ambiente Sustentável - Contaminantes da Água, seus Efeitos Fisiológicos e no Meio Ambiente. Disponível em:

<http://ambientesaudavelbiologia.wordpress.com/contaminacao-das-aguas>.

Acessado em: 20/05/2011.

ANA, Conjuntura dos recursos hídricos no Brasil 2009, Agência Nacional de Águas. Brasília: ANA, 2009.

APHA, Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, AWWA).New York: WPCF, 1995.

AREEKUL, S., HARWOOD, R. F. Acaricide bioassay - 2 organism suitable for bioassaying specific acaricides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, p. 32, 1960.

BANKS, M. K.; SCHULTZ, K. E. Comparison of plants for germination toxicity tests in petroleum-contaminated soils. **Water Air and Soil Pollution**, v. 167, p. 211-219, 2005.

BAUN, A.; LEDIN, A.; REITZEL, L. A.; BJERG, P. L.; CHRISTENSEN, T. H. Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills: chemical analysis and toxicity tests. **Water Research**, v. 38, p. 3845–3858, 2004.

BOROSKI, M.; RODRIGUES, A. C.; GARCIA, J. C.; GEROLA, A. P.; NOZAKI, J.; HIOKA, N. The effect of operational parameters on electrocoagulation-flotation process followed by photocatalysis applied to the decontamination of water effluents from cellulose and paper factories. **Journal of Hazardous Materials**, v. 160, p. 135-141, 2008.

BUSTOS-OBREGON, E.; VARGAS, A. Chronic toxicity bioassay with populations of the crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. **Biological Research**, v. 43, p. 357-362, 2010.

CALOW, P. Handbook of Ecotoxicology, vol. 1, Blackwell, Oxford, UK, 1993.

CHANG, L. W.; MEIER, J. R.; SMITH, M. K. Application of Plant and Earthworm Bioassay to Evaluate Remediation of a Lead-Contaminated Soil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 32, p. 166-171, 1997.

CHAPLA, T. E. e CAMPOS, J. B. Allelopathic Evidence in Exotic Guava (*Psidium guajava* L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, p. 1359-1362, 2010.

CHIRON, S.; FERNANDEZ-ALBA, A.; RODRIGUEZ, A.; GARCIA-CALVO, E. Pesticide chemical oxidation: state-of-the art. **Water Research**, v. 34, p. 366-377, 2000.

CHRISTENSEN, A. M.; MARKUSSEN, B.; BAUN, A.; HALLING-SORENSEN, B. Probabilistic environmental risk characterization of pharmaceuticals in sewage treatment plant discharges. **Chemosphere** V. 77, P. 351–358, 2009.

CHRISTENSEN, T. H.; BJERG, P. P. L.; JENSEN, D. L.; J. B.; CHRISTENSEN, A.; BAUM, A.; ALBRECHTSEN, H-J.; HERON G. Biochemistry of landfill leachate plumes. **Applied Geochemistry**, v. 16, p. 659-718, 2001.

CONAMA 20. Enquadramento dos corpos d'água segundo classes de usos - Classificação das águas doces, salobras e salinas, segundo seus usos preponderantes. Resolução N. 20, 18/061986.

CONAMA 357. Classificação das águas doces, salobras e salinas do território nacional. Conselho Nacional de Meio Ambiente, Resolução N. 357,18/05/2005.

CREASER, C. W. The Technic of Handling the Zebrafish (*Brachydanio rerio* for the Reproduction of Eggs Which Are Favourable for Embryological Research and Are Available at Any Specified Time Throughout the Year. **Copeia**, v. 4, p. 159-161, 1934

Deutsches Institute für Normung – DIN. 1989. DIN 38412: testverfahren mit Wasserorganismen (gruppeL) Bestimmung der nicht akut giftigen rkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen. Deutschland, p. 13.

DOUMA, M.; OUAHID, Y.; DEL CAMPO, F. F.; LOUDIKI, M.; MOUHRI, KH.; OUDRA, B. Identification and quantification of cyanobacterial toxins (microcystins) in two Moroccan drinking-water reservoirs (Mansour Eddahbi, Almassira). **Environmental Monitorament Assessment**, v. 160, p. 439-450, 2010.

EMMANUEL, E.; PERRODIN, Y.; BLANCHARD, J. M.; KECK, G.; VERMANDE, P. Effects of hospital wastewater on aquatic ecosystem - XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México, 2002.

Environmental Inquiry. Disponível em: <http://ei.cornell.edu/toxicology/bioassey/lettuce>. Acessado em: 20/03/2011.

FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; HERNANDO, D.; AGUERA, A.; CACERES, J.; MALATO, S. Toxicity assays: a way for evaluating AOPs efficiency. **Water Research**, v. 36, p. 4255-4262, 2002.

FJÄLLBORG, B.; LI, B.; NILSSON, E.; DAVE, G. Toxicity Identification Evaluation of Five Metals Performed with Two Organisms (*Daphnia magna* and *Lactuca sativa*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 50, p. 196-204, 2006.

FLOHR, L.; BRENTANOM D. M.; CARVALHO-PINTO, C. R. S.; MACHADO, V. G.; MATIAS, W. G. Classificação de resíduos sólidos industriais com base em testes ecotoxicológicos utilizando *Daphnia magna*: uma alternativa. **Biotemas**, v. 18, p. 7-18, 2005.

FREITAS, A. M. Utilização de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas por toxinas produzidas por cianobactérias. *Tese de doutorado*, Universidade Federal do Paraná, 2008.

FURLÁN, F. R.; SILVA, L. G. M.; MORGADO, A. F.; ULSON DE SOUZA, A. A. U.; ULSON DE SOUZA, S. M. A. G. Removal of reactive dyes from aqueous solutions using combined coagulation/flocculation and adsorption on activated carbon. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 54, p. 283-290, 2010.

GINOS, A.; MANIOS, T.; MANTZAVINOS, D. Treatment of olive mill effluents by coagulation-flocculation-hydrogen peroxide oxidation and effect on phytotoxicity. **Journal of Hazardous Materials**, v. B133, p. 135-142, 2006.

GRANADE, H. R.; CHENG, P.C.; DOORENBOS, N. J. Ciguatera.1. Brine shrimp (*Artemia salina* L.) larvae assay for ciguatera toxins. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 65, p. 1414, 1976.

GROSCH, D. S. Poisoning with DDT - effect on reproductive performance of *Artemia*. **Science**, v. 155, p. 592, 1967.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, p. 1737-1747, 2001.

HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, R. V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentration in toxicity bioassays. **Environmental Science Technology**, v. 11, p. 714-719, 1979.

HISEM, D.; HROUZEK, P.; TOMEK, P.; TOMŠÍCKOVÁ, J.; ZAPOMELOVÁ, E.; SKÁČELOVÁ, K.; LUKESOVÁ, A.; KOPECKÝ, J. Cyanobacterial cytotoxicity versus toxicity to brine shrimp *Artemia salina*. **Toxicon**, v. 57, p. 76-83, 2011.

HOOD, D. W.; DUKE, T. W.; STEVENSON, B. Measurement of toxicity of organic wastes to marine organism. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 32, p. 982, 1960.

INABA, S.; TAKENAKA, C. Effects of dissolved organic matter on toxicity and bioavailability of copper for lettuce sprouts. **Environment International**, v. 31, p. 603-608, 2005.

International Standard Organization – ISO. 1996. ISO 6341: water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera Crustacea). USA, p. 7.

KEDDY, C. J.; GREENE, J. C.; BANNELL, M. A. Review of whole-organism bioassays - soil, fresh-water, and fresh water assessment in Canada. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 30, p. 221-251, 1995.

KERSTING, K e HOLTERMANN, W. The feeding behavior of *Daphnia magna*, studied with the Coulter counter. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**, v. 18, p. 1434-1440, 1973.

KJELDSEN, P.; BARLAZ, M. A.; ROOKER, A. P.; BAUN, A.; LEDIN, A.; CHRISTENSEN, T. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. **Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 297-336, 2002.

KNIE, J. L .W.; LOPES, E. W. B. Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004.

KOMILIS, D. P.; TZIOUVARAS, I. S. A statistical analysis to assess the maturity and stability of six composts. **Waste Management**, v. 29, p. 1504-1513, 2009.

Laboratórios de Tecnologias Ambientais. Disponível em: <http://www.biologica.eng.uminho.pt/TAEL/downloads/analises/azotokjeldhal.pdf>.

Acessado em: 02/06/2011.

MARTÍ, E.; SIERRA, J.; SÁNCHEZ, M.; CRUAÑAS, R.; GARAU, M. A. Ecotoxicological test assessment of soils polluted by chromium (VI) or pentachlorophenol. **Science of the Total Environment**, v. 378, p. 53-57, 2007.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R.; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. Comparison of bioassays using the anostracan crustacean *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 897-903, 2010.

MCNEELY, R. N.; NEIMANIS, V. P.; DWYER, L. Water Quality Sourcebook: A guide to water quality parameters. Ottawa: Inland Waters Directorate, Water Quality Branch, 1979.

METCALF & EDDY, Inc. WasteWater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse. Boston: McGraw-Hill, Inc, 2003.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: A convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. **Planta Medica**, vol 45, 31-34, 1982.

MICHAEL, A. S.; THOMPSON, C. G.; ABRAMOVITZ, M. *Artemia salina* as a Test Organism for Bioassay. **Science**, v. 123, p. 464, 1956.

MONTEIRO, M. S.; LOPES, T.; MANN, R. M.; PAIVA, C., SOARES, A. M. V. M.; SANTOS, C. Microsatellite instability in *Lactuca sativa* chronically exposed to cadmium. **Mutation Research**, v. 672, p. 90-94, 2009.

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA e SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. De três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 143-148, 2008.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos de toxicologia. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

OKAMURA, H.; KITANO, S.; TOYOTA, S.; HARINO, H.; THOMAS, K. V. Ecotoxicity of degradation products of triphenylborane pyridine (TPBP) antifouling agent. **Chemosphere**, v. 74, p. 1275-1278, 2009.

PALÁCIO, S. M.; ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; OLIVEIRA, C. C.; BORBA, F. H.; SILVA JR., F. G. Toxicity assessment from electro-coagulation treated-textile dye wastewaters by bioassays. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 330-337, 2009.

PANDARD, P. Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of wastes. **Science of the Total Environment**, v. 363, p. 114-125, 2006.

RICHTER, J. A.; GOLDSTEIN, A. Effects of morphine-like compounds on light responses of brine shrimps. **Psychopharmacologia**, v. 17, p. 327, 1970.

ROBINSON, A. B.; MANLY, K. F.; ANTHONY, M. P.; CATCHPOOL, J. F. PAULING, L. Anesthesia of *Artemia* larvae - method for quantitative study. **Science**, v. 149, p. 1225, 1965.

RODRIGUES, A. C.; OLIVEIRA, J. M.; OLIVEIRA, J. A.; PEIXOTO, R.; NOGUEIRA, R.; BRITO, A. G. Tratamento de efluentes vitivinícolas: um caso de estudo na região dos vinhos verdes. **Indústria e Ambiente**, v. 40, p. 20-25, 2006.

ROMANELLI, M. F. Avaliação de toxicidade aguda e crônica dos surfactantes DSS e LAS submetidos à irradiação com feixes de elétrons. *Dissertação de mestrado*, Universidade de São Paulo, 2004.

SERAT, W. F.; BUDING, F. E.; JR. & MUELLER, P. K. Evaluation of biological effects of air pollutants by luminous bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 90, p. 832-833, 1965.

SHAH, V.; BELOZEROVA, I. Influence of Metal Nanoparticles on the Soil Microbial Community and Germination of Lettuce Seeds. **Water Air and Soil Pollution**, v. 197, p. 143-148, 2009.

SILVA, A. C. Tratamento do Percolado de Aterro Sanitário e Avaliação da Toxicidade. *Dissertação de Mestrado*, COPPE/UFRJ, 2002.



SILVA, L. L.; HELDWEIN, C. G.; REETZ, L. G. B.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Composição química, atividade antibacteriana *in vitro* e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 700-705, 2010.

SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* leach. **Química Nova**, v. 21, p. 557-559, 1998.

TARPLEY, W. A. Studies on the use of the brine shrimp *Artemia salina* (leach) as a test organism for bioassay. **Journal of Economic Entomology**, v. 51, p. 781, 1958.

TIEPO, E. N.; CORRÊA, A. X. R.; RESGALLA JR, C.; COTELLE, S.; FÉRARD, J.; RADETSKI, C. M. Terrestrial short-term ecotoxicity of a green formicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, p. 939-943, 2010.

TOTHILL, I. E.; TURNER, A. P. F. Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 15, p. 178-188, 1996.

VANHAECKE, P.; PERSOONE, G.; CLAUSS, C.; SORGELOOS, P. Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia-nauplii*. **Ecotoxicology Environmental Safety**, v. 5, p. 382, 1981.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental; Universidade Federal de Minas Gerais, 1995.

WANG, W. C.; FREEMARK, K. The use of plants for environmental monitoring and assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 30, p. 289-301, 1995.

WANG, Z.; XIAO, B.; SONG, L.; WU, X.; ZHANG, J.; WANG, C. Effects of microcystin-LR, linear alkylbenzene sulfonate and their mixture on lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds and seedlings. **Ecotoxicology**, v. 20, p. 803-814, 2011.

WEBER, C. I. Method for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms. **EPA**, Cincinnati, Ohio, USA, p. 253, 1993.

ZILLIOUX, E. J.; FOULK, H. R.; PRAGER, J. C.; CARDIN, J. A. Using Artemia to assay oil dispersant toxicities. **Journal Water Pollution Control Federation**, v. 45, p. 2389, 1973.

## ANEXO 1

**Tabela.** Tabela com bioensaios com sementes de *Lactuca sativa*.

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento								Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.		
1	CONTR.	I	7,0	10	10	100%	8	3,6	3,7	3,3	3,0	3,5	4,3	5,3	4,3	3,9	3,5	0,5	93%	6%		
2		II	7,0	10	9	90%	8	3,7	4,3	3,7	2,5	5,0	2,4	4,4	2,8	3,6						
3		III	7,0	10	9	90%	9	3,0	3,4	4,7	3,6	4,3	3,8	3,0	0,3	0,2					2,9	
4	S2 10%	I	8,0	10	9	90%	9	2,5	4,3	2,9	3,0	3,5	3,2	3,5	2,6	3,1	3,2	2,8	0,3	97%	6%	
5		II	8,0	10	10	100%	10	3,6	2,0	1,1	4,9	2,6	2,5	3,1	4,0	0,6	3,2					2,8
6		III	8,0	10	10	100%	10	2,3	2,2	2,8	3,0	3,5	1,3	3,2	2,5	2,0	2,3					2,5
7	S2 20%	I	8,0	10	10	100%	9	3,3	1,9	1,9	3,2	1,9	3,1	3,0	2,5	0,5	2,4	2,1	0,4	100%	0%	
8		II	8,0	11	11	100%	9	2,5	1,5	0,9	3,2	2,2	3,0	1,1	2,0	3,5	2,2					
9		III	8,0	9	9	100%	9	0,7	2,3	2,9	1,8	3,3	2,3	0,5	0,6	0,5	1,7					
10	S2 50%	I	8,0	10	10	100%	6	0,3	2,1	2,2	2,2	0,4	2,3			1,6	1,5	0,2	100%	0%		
11		II	8,0	10	10	100%	8	0,5	1,1	2,2	1,8	1,3	1,0	1,1	0,9	1,2						
12		III	8,0	10	10	100%	8	1,1	2,5	1,4	1,9	2,4	1,2	1,0	1,4	1,6						
13	S2 100%	I	8,0	10	9	90%	5	0,5	0,8	0,9	0,9	0,4				0,7	0,5	0,5	93%	6%		
14		II	8,0	10	10	100%	3	0,6	1,3	0,7						0,9						
15		III	8,0	10	9	90%	0	-								0,0						
16	E1/E2 10%	I	7,0	10	9	90%	6	1,2	1,1	1,4	3,2	0,8	0,8			1,4	1,7	0,4	97%	6%		
17		II	7,0	10	10	100%	7	1,2	0,6	4,0	4,2	0,6	1,1	3,8		2,2						
18		III	7,0	9	9	100%	7	0,7	2,2	2,4	0,7	1,8	1,9	1,5		1,6						
19	E1/E2 20%	I	7,0	10	10	100%	9	0,3	1,2	1,5	2,5	1,7	2,2	1,0	1,9	1,5	1,5	1,8	0,4	93%	12%	
20		II	7,0	10	8	80%	7	0,5	2,8	2,7	3,4	1,5	2,7	2,4		2,3						
21		III	7,0	10	10	100%	5	0,4	0,4	0,4	3,3	3,2				1,5						
22	E1/E2 50%	I	8,0	10	10	100%	9	0,4	0,3	0,5	1,5	2,2	1,4	1,9	1,3	1,2	1,2	1,0	0,1	97%	6%	
23		II	8,0	10	9	90%	8	0,5	0,9	1,0	0,9	0,6	1,0	1,3	1,5	1,0						
24		III	8,0	10	10	100%	8	1,2	0,8	1,1	1,0	0,9	0,7	1,0	1,0	1,0						
25	E1/E2 100%	I	8,0	10	9	90%	0	-								0,0	0,0	0,0	90%	0%		
26		II	8,0	10	9	90%	0	-								0,0						
27		III	8,0	10	9	90%	0	-								0,0						

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento						Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.			
28	L 10%	I	8,0	10	9	90%	7	0,4	1,2	1,2	1,2	0,4	1,5	1,2	1,0						
29		II	8,0	10	9	90%	3	0,7	0,5	0,4				0,5	0,8	0,2	90%	0%			
30		III	8,0	10	9	90%	7	0,4	0,9	0,9	0,9	1,1	0,8	0,5	0,8						
31	L 20%	I	8,0	10	10	100%	0	-						0,0							
32		II	8,0	10	10	100%	1	0,5						0,5	0,2	0,3	97%	6%			
33		III	8,0	10	9	90%	0	-						0,0							
34	L 50%	I	8,0	10	0	0%	0	-						0,0							
35		II	8,0	10	1	10%	0	-						0,0	0,0	0,0	3%	6%			
36		III	8,0	10	0	0%	0	-						0,0							
37	L 100%	I	8,0	10	0	0%	0	-						0,0							
38		II	8,0	10	0	0%	0	-						0,0	0,0	0,0	0%	0%			
39		III	8,0	10	0	0%	0	-						0,0							
40	N 0,2 M	I	6,5	10	5	50%	6	0,6	0,6	0,6	0,3	1,0		0,5							
41		II	6,5	10	5	50%	7	0,5	1,2	0,7	0,5	1,0		0,6	0,5	0,0	43%	12%			
42		III	6,5	10	3	30%	0	-						-							
43	N 0,1 M	I	6,5	10	6	60%	6	0,4	0,3	0,3	0,4	0,3	0,5	0,4							
44		II	6,5	10	8	80%	7	0,8	0,4	0,6	0,3	0,5	0,4	0,3	0,5	0,4	0,1	67%	12%		
45		III	6,5	10	6	60%	3	0,3	0,4	0,2				0,3							
46	N 0,075 M	I	6,5	10	8	80%	7	2,2	1,5	2,9	0,9	2,3	0,4	0,6	1,5						
47		II	6,5	10	10	100%	7	1,2	2,6	2,7	3,2	1,5	1,8	1,7	2,1	1,5	0,6	90%	10%		
48		III	6,5	10	9	90%	9	0,9	1,0	0,9	1,0	0,8	1,3	0,9	0,9	0,8	0,4				
49	N 0,05 M	I	6,5	10	10	100%	6	1,0	0,5	1,0	0,7	1,0	0,5	0,8							
50		II	6,5	10	9	90%	9	1,0	1,2	1,0	1,2	0,8	1,0	1,0	0,8	0,8	0,8	0,1	90%	10%	
51		III	6,5	10	8	80%	5	0,8	1,0	0,5	0,8	0,6		0,7							
52	N 0,025 M	I	6,5	10	10	100%	9	2,7	2,7	3,3	2,5	1,7	0,4	0,3	0,7	0,5	1,6				
53		II	6,5	10	10	100%	10	4,3	2,6	3,2	1,4	3,9	3,5	0,5	0,4	0,7	0,4	1,9	0,2	97%	6%
54		III	6,5	10	9	90%	7	1,9	1,5	2,2	1,9	2,9	2,8	0,5	2,0						
55	B 10%	I	6,5	10	10	100%	7	5,0	4,0	2,1	3,1	0,9	0,2	0,9	2,3						
56		II	6,5	10	9	90%	3	3,5	0,6	1,0				1,7	2,3	0,7	97%	6%			
57		III	6,5	10	10	100%	7	3,6	5,2	4,4	3,9	1,6	1,4	1,0	3,0						

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento								Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.		
58	B 20%	I	7,0	10	10	100%	8	4,3	2,8	4,8	3,1	1,1	0,8	0,5	0,7	2,3						
59		II	7,0	10	10	100%	6	1,1	4,8	1,1	3,9	1,0	0,4		2,1	2,0	0,3	100%	0%			
60		III	7,0	10	10	100%	8	4,6	4,8	0,8	1,2	0,7	0,3	0,7	0,6	1,7						
61	B 50%	I	7,0	10	10	100%	10	2,5	2,7	1,8	0,6	3,9	2,3	3,5	2,3	0,5	0,4	2,1				
62		II	7,0	10	9	90%	5	3,7	4,0	1,0	1,1	2,0			2,4	2,6	0,6	97%	6%			
63		III	7,0	10	10	100%	9	4,5	4,9	2,2	2,6	3,7	4,4	3,5	3,1	0,3	3,2					
64	B 100%	I	7,0	10	10	100%	9	3,9	3,5	2,0	3,7	2,8	2,0	2,5	2,7	2,4	2,8					
65		II	7,0	10	8	80%	6	4,7	1,0	2,6	3,7	3,2	2,3			2,9	2,6	0,5	87%	12%		
66		III	7,0	10	8	80%	7	2,0	1,0	4,0	0,8	1,3	2,4	2,0		1,9						
67	IB 1%	I	6,0	10	10	100%	7	4,0	4,5	2,8	2,4	0,7	0,3	1,2		2,3						
68		II	6,0	10	10	100%	7	1,3	0,7	1,2	1,7	5,0	1,0	0,5		1,6	2,2	0,6	100%	0%		
69		III	6,0	10	10	100%	9	4,5	2,5	3,3	2,9	4,0	0,5	2,3	1,1	4,2	2,8					
70	IB 10%	I	4,0	10	10	100%	4	2,0	0,4	2,0	0,5				1,2							
71		II	4,0	10	10	100%	10	2,0	2,1	2,0	1,9	2,0	1,4	0,5	2,3	1,2	0,3	1,6	1,3	0,2	100%	0%
72		III	4,0	10	10	100%	9	2,3	1,3	1,0	1,3	0,7	1,3	0,7	0,5	1,0	1,1					
73	IB 20%	I	4,0	10	5	50%	0	-							0,0							
74		II	4,0	10	5	50%	0	-							0,0	0,0	0,0	50%	0%			
75		III	4,0	10	5	50%	0	-							0,0							
76	IB 50%	I	3,0	10	0	0%	0	-							0,0							
77		II	3,0	10	1	10%	0	-							0,0	0,0	0,0	7%	6%			
78		III	3,0	10	1	10%	0	-							0,0							
79	IB 100%	I	2,0	10	0	0%	0	-							0,0							
80		II	2,0	10	0	0%	0	-							0,0	0,0	0,0	0%	0%			
81		III	2,0	10	0	0%	0	-							0,0							
82	IT 10%	I	6,0	10	10	100%	8	3,7	2,7	2,0	4,5	1,5	3,6	3,8	1,7	2,9						
83		II	6,0	10	8	80%	8	3,5	1,0	3,1	2,5	3,5	3,0	2,8	3,3	2,8	2,9	0,1	93%	12%		
84		III	6,0	10	10	100%	8	3,0	3,0	3,5	2,7	2,9	2,0	2,0	3,2	2,8						
85	IT 20%	I	6,0	10	10	100%	10	3,4	4,7	3,1	2,8	2,3	3,7	3,0	3,2	2,4	4,3	3,3				
86		II	6,0	10	8	80%	6	3,6	4,0	3,0	1,0	3,1	3,8			3,1	2,8	0,6	90%	10%		
87		III	6,0	10	9	90%	8	2,0	1,8	2,5	2,0	2,5	1,9	2,0	2,0	2,1						

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento	Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.
88	IT 50%	I	7,0	10	8	80%	7	3,0 3,4 1,5 2,6 3,0 2,5 2,3	2,6	2,7	0,3	93%	12%
89		II	7,0	10	10	100%	9	2,3 2,0 2,5 3,0 3,6 3,7 3,0 3,0 3,5	3,0				
90		III	7,0	10	10	100%	8	3,0 2,9 2,2 2,8 2,5 2,7 1,8 1,7	2,5				
91	IT 100%	I	7,0	10	10	100%	9	2,7 2,3 3,0 1,8 2,5 1,9 1,9 1,0 2,2	2,1	2,2	0,2	100%	0%
92		II	7,0	10	10	100%	10	2,9 2,7 2,0 1,6 1,6 2,0 2,5 2,7 3,4 2,4	2,4				
93		III	7,0	10	10	100%	10	2,8 1,6 1,9 1,2 1,6 3,0 2,5 2,2 1,0 2,0	2,0				
94	CONTR.	I	6,5	10	9	90%	9	5,0 1,4 4,7 5,2 4,0 3,6 4,5 0,5 0,6	3,3	3,5	0,5	97%	6%
95		II	6,5	10	10	100%	8	3,0 3,2 3,8 2,5 2,7 3,0 3,9 2,8	3,1				
96		III	6,5	10	10	100%	10	4,0 4,1 3,6 4,0 4,5 4,3 3,0 3,8 5,1 3,9	4,0				
97	N 0,2 M	I	6,5	10	10	100%	10	1,1 0,7 0,4 0,6 0,6 0,6 0,8 0,5 0,7 0,8	0,7	0,7	0,0	87%	15%
98		II	6,5	10	7	70%	7	0,7 0,5 0,6 0,9 0,8 0,8 0,6	0,7				
99		III	6,5	10	9	90%	9	0,6 0,7 0,5 0,9 0,6 0,8 0,9 0,4 0,7	0,7				
100	N 0,1 M	I	6,5	10	10	100%	10	1,0 2,3 1,6 1,4 1,5 1,7 1,5 1,5 1,8 1,1	1,5	1,6	0,1	100%	0%
101		II	6,5	10	10	100%	10	1,7 1,9 1,6 1,0 1,5 1,6 1,2 3,3 1,9 1,8	1,8				
102		III	6,5	10	10	100%	10	1,9 1,8 2,0 1,3 1,7 1,3 1,5 2,4 1,3 1,0	1,6				
103	N 0,075 M	I	6,5	11	11	100%	11	3,5 2,0 1,7 3,1 1,1 2,0 1,1 2,0 1,8 2,3 1,5	1,9	2,0	0,1	100%	0%
104		II	6,5	10	10	100%	10	1,7 2,1 2,0 2,6 1,5 2,0 2,2 2,1 2,4 2,5	2,1				
105		III	6,5	10	10	100%	10	1,4 1,5 1,7 2,5 1,8 1,6 2,0 2,1 2,8 2,2	2,0				
106	N 0,05 M	I	6,5	11	11	100%	11	2,3 2,3 1,9 2,4 2,2 1,2 1,3 2,1 2,7 2,6 2,3	1,9	2,3	0,3	100%	0%
107		II	6,5	10	10	100%	10	2,6 2,7 2,8 2,7 1,3 2,4 1,9 3,2 2,7 1,4	2,4				
108		III	6,5	9	9	100%	9	4,0 2,0 2,4 1,9 3,0 2,5 2,7 2,2 2,2	2,5				
109	N 0,025 M	I	6,5	11	11	100%	11	4,7 1,5 3,2 3,0 2,7 3,6 3,3 2,0 2,5 3,3 1,1	2,7	2,7	0,1	100%	0%
110		II	6,5	10	10	100%	9	2,8 3,0 3,0 2,5 3,1 3,1 3,3 2,5 2,7	2,9				
111		III	6,5	10	10	100%	8	2,8 2,4 3,5 2,0 2,5 3,1 1,9 3,0	2,7				
112	S1 10%	I	7,0	10	10	100%	10	3,6 4,7 3,0 3,9 2,4 1,0 4,0 3,7 3,5 4,6	3,4	2,9	0,6	100%	0%
113		II	7,0	10	10	100%	10	2,0 2,5 2,4 2,3 2,2 2,7 2,0 2,0 2,0 1,9	2,2				
114		III	7,0	11	11	100%	11	3,9 3,0 2,9 2,0 4,2 4,1 2,9 4,4 2,7 3,4 4,0	3,0				
115	S1 20%	I	7,0	10	10	100%	9	4,4 2,8 2,7 4,8 3,9 2,9 4,0 3,8 2,5	3,5	3,2	0,4	100%	0%
116		II	7,0	10	10	100%	8	3,7 3,4 3,0 2,5 1,7 2,6 2,3 3,0	2,8				
117		III	7,0	10	10	100%	9	4,3 3,6 2,7 2,5 3,0 2,0 1,9 3,2 2,9	3,3				

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.	
118	S1 50%	I	7,0	10	10	100%	10	2,0	2,5	1,5	2,1	2,5	1,0	2,8	2,3	2,3	1,1	2,2	2,2	0,5	100%	0%	
119		II	7,0	11	11	100%	11	2,9	3,4	1,8	3,3	1,3	1,3	2,3	4,0	3,3	2,8	1,4					2,6
120		III	7,0	10	10	100%	10	1,8	2,3	2,0	2,8	1,3	1,0	0,4	1,2	2,5	2,7	1,6					
121	S1 100%	I	7,0	10	9	90%	9	0,3	1,1	0,6	1,2	1,0	0,9	0,3	0,4	0,3		0,6	0,5	0,2	97%	6%	
122		II	7,0	10	10	100%	9	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,8	0,5	0,3						
123		III	7,0	10	10	100%	10	0,1	0,4	0,2	0,2	0,7	1,2	0,5	1,0	0,6	0,3	0,6					
124	S2 10% 2	I	6,5	10	9	90%	9	3,5	2,2	3,8	2,5	3,0	3,6	2,5	1,7	2,3		2,5	2,9	0,4	93%	6%	
125		II	6,5	10	10	100%	10	3,3	2,5	4,0	3,9	3,0	2,9	2,9	3,0	1,3	2,8	3,3					
126		III	6,5	10	9	90%	8	3,5	3,3	5,0	3,0	3,0	3,2	3,8	4,4			2,9					
127	S2 20% 2	I	7,0	10	10	100%	10	3,8	3,7	1,9	3,6	3,5	1,9	2,5	3,0	3,0	3,4	3,8	3,3	0,4	100%	0%	
128		II	7,0	10	10	100%	10	2,5	3,3	3,7	3,8	2,1	2,5	3,7	2,3	2,3	3,6	3,0					
129		III	7,0	10	10	100%	10	3,4	2,8	4,0	3,0	2,7	3,5	2,8	3,3	3,2	3,6	3,2					
130	S2 50% 2	I	7,0	10	10	100%	10	3,2	2,3	3,0	3,4	2,8	1,1	3,2	2,0	2,8	3,0	2,7	2,2	0,4	100%	0%	
131		II	7,0	10	10	100%	10	1,5	2,5	3,0	2,7	1,4	1,2	1,2	2,5	2,8	3,1	2,2					
132		III	7,0	10	10	100%	10	2,2	2,3	1,6	3,1	1,1	1,4	2,3	2,8	1,0	0,9	1,9					
133	S2 100% 2	I	7,5	10	10	100%	9	1,2	1,8	0,7	0,4	0,2	1,3	0,2	0,2	0,7		0,7	0,5	0,3	100%	0%	
134		II	7,5	10	10	100%	10	1,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,5	0,4					
135		III	7,5	10	10	100%	10	0,5	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3					
136	CBR 10%	I	6,0	10	10	100%	10	3,5	4,2	4,0	3,0	4,5	2,5	4,5	2,8	2,6	5,6	3,7	3,5	0,2	100%	0%	
137		II	6,0	10	10	100%	8	3,7	3,1	1,7	2,7	4,6	4,3	3,8	2,4			3,3					
138		III	6,0	10	10	100%	10	4,0	2,5	4,4	4,2	3,1	2,2	3,2	4,6	3,5	2,4	3,4					
139	CBR 20%	I	7,0	10	10	100%	10	4,2	3,5	4,0	3,8	3,0	2,2	4,3	2,9	3,1	1,3	3,2	3,3	0,1	100%	0%	
140		II	7,0	10	10	100%	10	4,9	3,5	2,3	3,0	4,2	3,6	3,1	3,1	3,0	3,7	3,4					
141		III	7,0	11	11	100%	11	3,0	3,1	4,5	4,2	5,1	1,6	4,1	3,2	2,7	3,9	3,3					
142	CBR 50%	I	7,0	10	10	100%	10	3,6	3,3	3,0	2,7	2,9	1,6	2,1	2,5	1,9	1,1	2,5	2,3	0,4	100%	0%	
143		II	7,0	10	10	100%	10	2,1	1,0	2,3	1,3	2,0	2,6	2,1	1,7	1,0	3,2	1,9					
144		III	7,0	10	10	100%	10	2,3	2,8	2,7	3,2	2,1	3,4	2,3	1,9	2,4	2,8	2,6					
145	CBR 100%	I	7,0	10	10	100%	10	0,6	1,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,9	0,6	100%	0%	
146		II	7,0	10	10	100%	10	1,6	0,9	1,4	1,3	0,6	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,7					
147		III	7,0	10	10	100%	10	2,3	2,2	1,0	1,0	2,1	2,1	1,6	1,0	1,5	0,4	1,5					

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.
148	CONTR.	I	7,0	10	10	100%	10	3,4	4,0	3,3	2,9	4,1	1,0	3,8	3,3	3,0	3,2	3,2	3,4	0,2	100%	0%
149		II	7,0	10	10	100%	10	1,5	4,3	3,5	4,0	3,2	3,4	3,5	2,0	4,0	3,7	3,3				
150		III	7,0	10	10	100%	10	4,5	3,0	3,8	3,7	4,7	2,9	3,4	1,2	3,8	4,7	3,6				
151	N 0,2 M	I	6,5	10	7	70%	7	0,6	1,0	0,7	0,5	0,4	0,4	0,5				0,6	0,6	0,0	83%	12%
152		II	6,5	10	9	90%	9	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,8	0,7	0,6	0,3		0,6				
153		III	6,5	10	9	90%	9	0,5	0,5	0,5	0,6	0,5	0,6	0,6	0,5	0,6		0,5				
154	N 0,1 M	I	6,5	10	10	100%	10	1,4	3,9	1,0	1,2	0,9	1,0	1,1	1,3	1,5	0,6	1,4	1,5	0,2	100%	0%
155		II	6,5	10	10	100%	10	1,3	1,5	2,4	1,2	1,6	1,0	1,4	1,2	2,0	1,7	1,5				
156		III	6,5	10	10	100%	10	1,6	1,5	2,3	1,6	1,6	1,6	1,5	2,3	1,2	1,7	1,7				
157	N 0,075 M	I	6,5	10	9	90%	9	2,2	3,1	3,4	2,2	3,6	2,7	3,2	3,4	2,8		3,0	2,4	0,6	93%	6%
158		II	6,5	10	10	100%	10	3,4	2,4	1,7	2,7	4,1	2,2	2,2	2,1	3,2	1,4	2,5				
159		III	6,5	10	9	90%	9	2,1	2,0	2,1	1,7	1,5	1,7	1,5	1,8	1,6		1,8				
160	N 0,05 M	I	6,5	10	10	100%	10	3,4	2,4	2,6	1,4	2,8	3,3	1,7	2,7	2,0	2,1	2,4	2,5	0,2	100%	0%
161		II	6,5	10	10	100%	10	2,9	2,1	3,7	1,7	2,8	3,1	2,7	3,7	2,3	2,4	2,7				
162		III	6,5	10	10	100%	10	3,9	2,5	1,9	0,6	2,5	1,5	2,3	2,7	2,7	2,2	2,3				
163	N 0,025 M	I	6,5	10	10	100%	10	3,5	4,0	2,7	3,3	2,7	3,0	2,3	3,5	2,8	2,2	3,0	3,1	0,2	100%	0%
164		II	6,5	10	10	100%	10	2,7	3,4	2,2	2,6	2,4	3,4	3,0	3,7	4,3	3,0	3,1				
165		III	6,5	10	10	100%	10	4,5	3,1	1,6	3,3	3,6	3,1	3,6	3,2	3,6	3,8	3,3				
166	EV 1%	I	8,0	10	10	100%	10	5,1	5,2	3,5	4,6	2,7	2,9	3,2	4,1	5,1	3,5	4,0	3,5	0,5	90%	10%
167		II	8,0	10	8	80%	8	2,0	5,1	3,6	4,3	3,5	2,8	3,7	0,7			3,2				
168		III	8,0	10	9	90%	9	2,1	2,8	3,2	3,2	5,1	4,0	2,7	0,7	4,8		3,2				
169	EV 10%	I	4,0	10	10	100%	10	2,2	0,7	1,0	0,8	1,5	2,8	1,5	1,3	1,7	0,8	1,4	1,5	0,4	100%	0%
170		II	4,0	10	10	100%	10	1,3	1,0	1,0	1,0	1,4	1,1	0,6	0,6	1,1	1,3	1,0				
171		III	4,0	11	11	100%	11	1,2	1,4	2,5	1,3	3,1	1,6	2,0	2,8	3,2	1,6	0,9				
172	EV 20%	I	8,0	10	10	100%	10	1,5	2,6	1,8	2,1	2,2	1,2	2,5	2,1	2,6	1,8	2,0	2,6	0,5	100%	0%
173		II	8,0	10	10	100%	9	2,8	3,2	3,3	3,0	2,8	3,5	3,1	3,2	3,2		3,1				
174		III	8,0	11	11	100%	11	2,8	3,0	2,0	3,6	2,3	2,9	1,9	2,7	3,5	2,8	2,7				
175	EV 50%	I	7,0	10	10	100%	10	1,9	1,2	1,6	1,4	1,9	1,5	1,9	2,2	1,5	0,8	1,6	1,5	0,1	100%	0%
176		II	7,0	10	10	100%	10	1,3	1,4	1,5	1,5	1,8	1,9	2,4	1,2	1,5	1,4	1,6				
177		III	7,0	10	10	100%	10	1,5	1,6	0,8	1,5	1,4	2,2	0,6	3,1	1,3	0,6	1,5				



N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.		
178	EV 100%	I	7,0	10	9	90%	6	0,7	0,3	0,5	0,8	0,5	0,8							0,6				
179		II	7,0	10	10	100%	7	1,0	0,7	0,6	1,3	0,9	0,9	1,3						1,0	0,9	0,2	90%	10%
180		III	7,0	10	8	80%	4	1,1	0,7	1,4	0,9									1,0				
181	IB 10% pH 7	I	6,0	10	10	100%	10	4,3	1,0	3,7	3,2	3,4	2,9	4,1	4,4	5,2	4,6			3,7				
182		II	6,0	10	10	100%	10	4,2	3,5	4,3	3,9	2,5	3,6	3,8	3,0	4,9	3,4			3,7	3,5	0,3	100%	0%
183		III	6,0	10	10	100%	9	2,5	3,2	3,7	4,0	3,2	3,3	3,5	2,7	2,7				3,2				
184	IB 20% pH 7	I	6,0	10	10	100%	10	2,7	3,6	2,8	2,8	3,2	2,3	2,7	2,6	3,1	4,1			3,0				
185		II	6,0	10	9	90%	9	2,5	3,0	2,2	1,0	3,1	3,1	2,4	3,6	3,0			2,7	2,8	0,2	97%	6%	
186		III	6,0	10	10	100%	10	2,2	3,6	0,6	3,7	3,2	2,7	3,6	2,1	2,7	2,6			2,7				
187	IB 50% pH 7	I	6,0	10	10	100%	10	3,0	2,6	2,8	3,6	2,8	3,8	2,7	2,7	2,0	2,9			2,9				
188		II	6,0	10	9	90%	9	2,1	2,9	2,2	1,9	3,0	3,0	2,4	2,4	2,7			2,5	2,7	0,2	93%	6%	
189		III	6,0	10	9	90%	9	2,8	2,6	3,5	2,7	2,6	2,2	3,4	2,3	1,8			2,7					
190	IB 100% pH 7	I	6,5	10	9	90%	9	0,9	0,7	0,7	0,6	1,0	1,9	0,6	1,0	1,5			1,0					
191		II	6,5	10	9	90%	9	0,4	0,7	1,0	1,0	0,6	0,8	0,7	0,7	0,5			0,7	0,8	0,2	90%	0%	
192		III	6,5	10	9	90%	9	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,4	0,8	0,6	0,5			0,6					
193	CONTR.	I	7,0	10	10	100%	10	4,4	3,3	4,0	3,9	4,8	4,8	3,3	2,6	4,5	5,5			4,1				
194		II	7,0	10	10	100%	10	4,3	3,3	4,8	4,1	3,7	3,9	5,1	3,5	4,1	4,8			4,2	4,1	0,0	100%	0%
195		III	7,0	10	10	100%	10	3,9	4,3	5,0	4,3	3,5	4,3	4,0	3,4	3,6	4,6			4,1				
196	L 10% pH7	I	7,0	10	9	90%	9	3,7	3,7	3,7	3,5	2,5	3,6	4,3	2,7	3,2			3,4					
197		II	7,0	10	9	90%	9	3,7	4,5	3,8	2,4	4,1	4,5	1,7	3,7	2,0			3,4	3,2	0,3	90%	0%	
198		III	7,0	10	9	90%	9	3,0	3,2	1,7	2,7	4,1	1,9	4,1	3,3	1,9			2,9					
199	CONTR.	I	7,0	10	10	100%	9	5,0	3,3	1,3	4,2	1,3	3,6	2,1	4,4	4,5			3,3					
200		II	7,0	10	10	100%	7	3,2	1,1	3,5	3,1	4,0	1,5	0,9					2,5	2,7	0,5	100%	0%	
201		III	7,0	10	10	100%	10	0,7	1,3	1,3	0,8	2,5	3,3	3,3	4,0	4,2	3,3			2,5				
202	N 0,2 M	I	6,5	10	6	60%	9	0,6	0,8	1,1	0,6	0,5	0,8						0,5					
203		II	6,5	10	4	40%	4	0,3	0,6	0,5	1,0								0,6	0,5	0,1	49%	10%	
204		III	6,5	13	6	46%	9	0,5	0,6	0,8	0,6	0,6	1,8						0,5					
205	N 0,1 M	I	6,5	11	11	100%	11	2,0	1,2	1,3	1,2	1,3	1,3	0,9	0,5	1,6	1,5	1,6		1,2				
206		II	6,5	10	10	100%	10	1,3	0,5	1,4	2,6	1,5	2,2	1,0	1,5	1,9	2,4			1,6	1,6	0,4	100%	0%
207		III	6,5	10	10	100%	10	2,7	2,7	2,0	1,4	0,6	0,7	0,9	3,5	2,4	3,7			2,1				

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento	Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.
208	N 0,075 M	I	6,5	10	9	90%	9	2,5 2,3 1,8 2,0 2,0 0,6 2,6 2,6 3,7	2,2	2,0	0,2	97%	6%
209		II	6,5	10	10	100%	10	2,4 3,3 2,3 0,4 2,4 3,1 1,2 0,5 2,7 2,5	2,1				
210		III	6,5	10	10	100%	10	1,0 2,0 3,2 2,1 1,4 2,4 1,7 1,3 1,8 1,4	1,8				
211	N 0,05 M	I	6,5	10	10	100%	10	2,7 1,0 1,4 2,3 2,7 1,5 2,4 1,6 2,5 3,6	2,2	2,5	0,4	100%	0%
212		II	6,5	10	10	100%	10	2,2 2,6 2,0 2,5 2,9 2,6 2,2 2,8 2,1 2,4	2,4				
213		III	6,5	10	10	100%	10	3,2 3,1 3,0 2,5 3,2 3,3 2,4 3,4 3,7 2,4	3,0				
214	N 0,025 M	I	6,5	10	10	100%	9	2,4 1,5 2,1 3,0 3,2 3,1 2,4 3,8 1,9	2,6	2,8	0,5	100%	0%
215		II	6,5	10	10	100%	10	2,7 2,4 4,2 4,1 2,8 2,2 4,0 4,0 3,3 3,8	3,4				
216		III	6,5	10	10	100%	10	2,4 3,0 2,0 2,8 2,0 2,3 1,6 1,7 3,4 2,4	2,4				
217	EH 10%	I	6,5	10	10	100%	10	3,5 2,5 3,7 4,4 4,0 3,9 4,4 2,9 4,3 4,2	3,8	3,8	0,3	100%	0%
218		II	6,5	10	10	100%	9	3,1 3,3 6,3 5,2 1,9 3,4 4,3 0,6 3,5	3,5				
219		III	6,5	10	10	100%	10	4,4 3,8 3,1 3,3 5,2 2,4 5,1 4,3 3,6 5,0	4,0				
220	EH 20%	I	6,5	10	10	100%	10	3,2 2,6 4,6 3,0 1,1 1,7 3,5 5,0 4,0 3,9	3,3	3,6	0,3	97%	6%
221		II	6,5	10	10	100%	10	3,6 3,7 5,1 2,8 3,3 5,0 5,3 4,6 2,3 3,5	3,9				
222		III	6,5	10	9	90%	9	3,7 3,6 3,9 1,5 4,2 4,0 3,7 3,7 3,6	3,5				
223	EH 50%	I	7,0	10	10	100%	10	3,1 3,0 3,5 2,8 2,9 4,1 2,7 3,0 4,3 2,6	3,2	3,5	0,4	97%	6%
224		II	7,0	10	10	100%	9	2,7 3,8 4,1 3,5 3,2 3,3 2,1 2,7 4,2	3,3				
225		III	7,0	10	9	90%	9	3,1 2,9 5,4 2,5 3,1 4,4 5,4 5,1 3,2	3,9				
226	EH 100%	I	7,0	10	9	90%	6	2,5 1,5 2,7 2,8 0,7 2,3 2,5	2,5	1,9	0,6	97%	6%
227		II	7,0	10	10	100%	9	2,2 0,5 1,1 1,3 0,9 2,2 1,0 0,4 1,6	1,2				
228		III	7,0	10	10	100%	9	1,1 0,5 2,5 2,4 2,4 2,3 1,4 2,0 2,5	1,9				
229	ELA-EU 10%	I	6,5	10	10	100%	10	4,7 4,3 4,0 1,7 4,9 4,1 4,0 4,0 3,4 5,3	4,0	4,0	0,0	100%	0%
230		II	6,5	10	10	100%	10	4,8 3,7 4,3 3,7 3,7 4,0 3,8 4,6 4,2 3,7	4,1				
231		III	6,5	10	10	100%	10	4,2 4,9 4,4 4,6 4,5 4,3 2,6 3,6 2,7 3,9	4,0				
232	ELA-EU 20%	I	6,5	10	10	100%	10	5,4 3,0 4,8 3,2 4,8 5,7 2,2 3,7 1,9 3,9	3,9	3,9	0,1	97%	5%
233		II	6,5	10	10	100%	9	4,0 4,0 4,9 1,2 4,5 2,8 5,8 4,6 3,1	3,9				
234		III	6,5	11	10	91%	10	4,2 4,4 5,2 3,8 5,3 4,8 5,4 3,7 3,2 0,7	4,1				
235	ELA-EU 50%	I	6,5	10	10	100%	10	3,5 2,2 4,1 5,6 4,6 1,0 3,1 2,7 2,7 0,6	3,0	3,2	0,1	100%	0%
236		II	6,5	10	10	100%	9	3,4 3,7 5,0 3,9 3,9 2,9 3,6 3,2	3,3				
237		III	6,5	11	11	100%	11	4,2 3,6 3,3 3,9 3,9 4,2 2,6 2,6 3,4 3,3 3,9	3,2				

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.	
238	ELA-EU 100%	I	7,0	10	10	100%	10	4,5	2,4	3,6	2,4	3,7	2,7	2,9	3,2	1,2	2,6	2,9	3,0	0,4	100%	0%	
239		II	7,0	10	10	100%	10	3,8	2,5	2,3	3,3	1,6	2,1	2,4	3,0	2,1	3,1	2,6					
240		III	7,0	10	10	100%	10	2,6	3,2	2,4	4,1	4,7	3,6	3,7	3,5	3,6	2,4	3,4					
241	SLA-EU 10%	I	6,5	11	11	100%	10	3,6	4,6	2,8	3,7	2,3	4,5	1,8	3,9	2,3	3,8	5,5	3,3	3,3	0,3	100%	0%
242		II	6,5	10	10	100%	10	4,6	3,4	1,7	3,7	2,5	2,2	3,7	4,4	2,8	0,4	2,9					
243		III	6,5	10	10	100%	10	4,7	4,8	4,2	1,8	1,0	2,7	4,2	4,1	3,6	3,9	3,5					
244	SLA-EU 20%	I	6,5	10	10	100%	10	5,3	3,3	4,8	4,3	4,1	4,5	4,7	4,2	4,2	4,2	4,1	4,4	4,2	0,2	100%	0%
245		II	6,5	10	10	100%	9	5,0	4,7	5,4	3,9	4,2	3,9	3,2	3,0	3,0	2,1	4,3					
246		III	6,5	10	10	100%	9	4,6	4,1	5,0	4,8	4,8	3,5	3,6	3,6	1,1		3,9					
247	SLA-EU 50%	I	6,5	10	10	100%	10	4,2	3,8	3,9	2,3	3,4	1,5	4,4	3,5	2,7	0,6	3,0	3,6	0,6	93%	12%	
248		II	6,5	10	8	80%	7	3,2	4,3	3,3	3,9	3,4	3,6	2,8				3,5					
249		III	6,5	10	10	100%	10	5,5	4,6	3,9	5,2	2,2	3,8	5,1	5,4	3,4	2,4	4,2					
250	SLA-EU 100%	I	6,5	10	10	100%	10	3,2	3,0	4,1	1,5	3,8	3,6	4,2	3,3	2,8	3,8	3,3	3,4	0,3	100%	0%	
251		II	6,5	10	10	100%	9	3,6	3,3	2,9	4,8	3,7	2,9	3,5	4,3	4,0		3,7					
252		III	6,5	10	10	100%	9	4,1	3,2	0,4	2,2	3,8	2,7	3,8	4,1	4,0		3,1					
253	CONTR.	-	7,0	10	10	100%	10	4,4	5,2	4,1	3,0	1,1	4,7	3,0	4,6	3,5	3,0	3,7	3,7	0,0	100%	0%	
254		-	7,0	10	10	100%	10	3,6	3,6	2,8	5,1	3,5	4,8	4,5	4,3	3,7	1,2	3,7					
255		I	7,0	10	10	100%	10	1,1	1,5	0,9	1,0	0,8	1,0	1,0	1,3	0,8	0,8	1,0					
256	N 0,2 M	II	7,0	10	9	90%	9	2,5	1,3	3,3	1,9	1,3	1,1	1,8	1,0	1,4		1,7	1,4	0,5	95%	7%	
257		I	7,0	10	9	90%	8	2,6	2,2	2,4	2,5	1,8	1,1	0,8	0,5			1,7					
258	N 0,1 M	II	7,0	10	10	100%	9	2,0	1,7	1,6	1,7	1,7	1,7	2,2	1,7	1,3		1,7	1,7	0,0	95%	7%	
259		I	7,0	10	10	100%	10	1,7	1,6	3,0	2,6	3,0	2,5	2,5	3,2	3,1	3,0	2,6					
260	N 0,075 M	II	7,0	10	10	100%	10	4,0	3,5	3,3	2,6	2,3	2,5	3,2	4,4	3,6	2,6	3,2	2,9	0,4	100%	0%	
261		I	7,0	11	10	91%	10	3,1	3,0	3,0	3,0	2,4	3,0	1,6	2,1	2,0	0,8	2,4					
262	N 0,05 M	II	7,0	10	9	90%	9	3,0	3,0	4,2	2,6	4,3	2,1	2,9	3,1	3,5		3,2	2,8	0,6	90%	1%	
263		I	7,0	10	10	100%	10	3,7	2,9	3,3	2,0	3,8	3,3	2,5	3,9	2,6	2,8	3,1					
264	N 0,025 M	II	7,0	10	10	100%	10	2,8	2,6	2,4	3,2	3,5	4,0	3,6	2,2	3,8	4,5	3,3	3,2	0,1	100%	0%	
265		I	7,0	10	9	90%	9	2,8	2,2	2,0	2,0	2,0	1,9	3,2	2,9	2,2		2,3					
266	S2' 10%	II	7,0	11	10	91%	10	4,1	2,5	3,6	3,2	5,0	2,3	3,1	0,6	2,9	4,5	3,2	2,8	0,6	90%	1%	
267		III	7,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					-

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.	
268	S2' 20%	I	7,0	11	11	100%	11	6,1	3,6	3,3	3,4	3,9	3,5	4,0	3,1	3,2	3,2	3,9	3,4	3,4	0,0	100%	0%
269		II	7,0	10	10	100%	10	2,7	4,5	3,5	3,6	3,8	3,0	4,0	3,6	3,1	2,0	3,4					
<del>270</del>		III	<del>7,0</del>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
271	S2' 50%	I	7,0	10	10	100%	10	3,1	1,6	3,1	4,0	3,5	3,0	2,5	2,8	2,9	3,4	3,0	2,4	0,5	93%	12%	
272		II	7,0	10	10	100%	10	1,9	2,8	2,3	2,3	2,1	1,4	2,2	1,0	2,6	1,6	2,0					
273		III	7,0	10	8	80%	8	2,0	2,0	1,7	2,4	2,0	2,5	2,7	1,6			2,1					
274	S2' 100%	I	7,0	10	9	90%	9	0,8	0,6	0,2	2,4	0,3	0,2	0,6	0,8			0,4	0,4	0,1	97%	6%	
275		II	7,0	10	10	100%	5	0,6	0,2	0,3	0,5	0,2						0,4					
276		III	7,0	10	10	100%	9	0,5	0,5	0,4	0,8	0,6	0,4	0,5	0,5	0,5							0,5
277	E2' 10%	I	7,0	10	10	100%	10	3,0	4,8	4,7	4,4	4,3	3,3	3,6	4,4	3,3	3,1	3,9	3,4	0,6	95%	7%	
278		II	7,0	10	9	90%	8	4,1	3,0	3,0	3,7	2,4	2,2	2,6	3,0			3,0					
<del>279</del>		III	<del>7,0</del>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					-
280	E2' 20%	I	6,0	10	10	100%	9	4,2	3,6	4,7	2,5	2,7	3,5	2,9	3,6	4,0			3,5	3,1	0,6	100%	0%
281		II	6,0	10	10	100%	10	2,6	3,8	3,0	3,0	2,0	2,3	3,0	2,6	2,7	2,3	2,7					
<del>282</del>		III	<del>6,0</del>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
283	E2' 50%	I	7,0	10	10	100%	10	0,5	0,5	0,6	0,3	0,8	0,8	0,8	1,0	0,5	0,6	0,6	1,2	0,6	100%	0%	
284		II	7,0	10	10	100%	10	2,5	1,4	2,5	0,8	0,5	1,1	0,9	0,9	1,1	0,8	1,3					
285		III	7,0	10	10	100%	10	2,1	1,8	1,7	1,7	1,1	2,2	1,9	1,9	0,8	2,2	1,7					
286	E2' 100%	I	8,0	10	10	100%	7	0,3	0,3	0,3	0,7	0,2	0,2	0,2				0,3	0,4	0,1	97%	6%	
287		II	8,0	10	9	90%	7	0,6	0,2	0,3	0,2	0,4	0,7	0,7				0,4					
288		III	8,0	10	10	100%	1	0,4										0,4					
289	L' 10%	I	7,0	10	10	100%	10	1,6	1,0	0,9	0,5	0,4	0,6	0,6	1,0	1,4	0,6	0,9	1,1	0,3	100%	0%	
290		II	7,0	10	10	100%	10	1,4	1,5	0,6	1,0	1,4	1,2	1,7	0,8	2,1	1,5	1,3					
<del>291</del>		III	<del>7,0</del>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					-
292	L' 20%	I	8,0	10	10	100%	2	0,5	0,7									0,6	0,5	0,2	100%	0%	
293		II	8,0	10	10	100%	3	0,3	0,2	0,9								0,5					
294		III	8,0	10	10	100%	1	0,3										0,3					
295	L' 50%	I	8,0	10	0	0%	0	-										0,0	0,0	0,0	0%	0%	
296		II	8,0	10	0	0%	0	-										0,0					
297		III	8,0	10	0	0%	0	-										0,0					

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento										Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.					
298	L' 100%	I	8,0	10	0	0%	0	-													0,0	0,0	0,0	0%	0%		
299		II	8,0	10	0	0%	0	-													0,0						
300		III	8,0	10	0	0%	0	-																		0,0	
301	B' 10%	I	6,5	10	10	100%	10	3,4	4,3	4,4	4,4	3,1	4,0	5,7	4,2	3,5	4,3					4,1	4,2	0,0	100%	0%	
302		II	6,5	9	9	100%	9	4,7	3,0	4,6	4,1	1,7	5,0	5,4	4,0	5,2						4,2					
303		III	6,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-									-
304	B' 20%	I	6,5	10	10	100%	10	0,5	5,1	5,2	4,5	4,3	4,3	4,2	5,5	4,5	5,0					4,3	4,2	0,1	100%	0%	
305		II	6,5	10	10	100%	9	4,4	4,5	5,5	0,6	3,9	4,8	4,1	4,5	4,3						4,1					
306		III	6,5	10	10	100%	10	3,9	0,8	4,3	3,0	4,2	4,1	5,5	5,0	5,4	5,5										4,2
307	B' 50%	I	6,5	10	10	100%	10	5,2	4,5	4,5	4,2	3,7	4,4	1,6	2,5	3,2	3,5					3,7	4,2	0,4	100%	0%	
308		II	6,5	10	10	100%	10	3,8	4,0	3,9	3,5	5,0	4,1	4,2	4,2	5,8	3,7										4,2
309		III	6,5	10	10	100%	10	4,2	4,5	4,6	3,7	4,1	4,2	6,0	5,5	4,7	3,8										4,5
310	B' 100%	I	6,5	10	10	100%	10	3,6	3,6	2,9	4,5	5,2	3,1	3,2	3,5	4,6	2,2					3,6	3,7	0,1	100%	0%	
311		II	6,5	10	10	100%	10	4,5	3,6	2,5	4,0	3,2	4,0	4,5	3,8	4,1	3,1										3,7
312		III	6,5	10	10	100%	10	3,6	4,3	1,7	3,9	4,3	4,4	4,5	3,6	3,0	4,5										3,8
313	N 0,025 M	I	7,0	10	10	100%	10	2,9	3,4	2,6	3,3	2,9	3,6	2,8	2,8	3,4	3,4					3,1	3,3	0,3	97%	6%	
314		II	7,0	10	10	100%	10	3,6	3,5	2,8	3,2	2,0	3,1	3,4	3,4	3,5	2,6										3,1
315		III	7,0	10	9	90%	9	3,5	4,1	4,5	3,6	3,4	2,9	3,3	4,0	3,4						3,6					
316	N 0,05 M	I	7,0	10	9	90%	8	2,4	2,9	3,6	3,4	2,2	2,5	3,4	2,5							2,9	2,8	0,2	97%	6%	
317		II	7,0	10	10	100%	9	3,7	2,8	1,8	2,8	3,0	3,3	1,3	2,5	2,2						2,6					
318		III	7,0	10	10	100%	9	3,3	2,7	2,7	3,2	3,4	2,7	2,4	2,6	2,9						2,9					
319	N 0,075 M	I	7,0	10	10	100%	10	2,4	2,5	1,0	2,7	3,5	3,1	3,1	3,1	3,0	0,7						2,5	2,4	0,4	100%	0%
320		II	7,0	10	10	100%	10	2,7	1,5	2,1	3,0	4,0	2,8	2,4	3,4	2,6	2,9						2,7				
321		III	7,0	10	10	100%	10	3,6	1,8	1,2	2,5	2,5	1,2	1,0	1,4	2,0	1,8						1,9				
322	N 0,1 M	I	7,0	10	9	90%	9	2,1	2,5	2,4	2,6	2,2	2,4	2,8	3,0	2,1						2,5	2,0	0,5	97%	6%	
323		II	7,0	10	10	100%	10	2,2	2,6	2,6	2,6	1,1	1,8	2,8	2,5	1,3	0,7										2,0
324		III	7,0	10	10	100%	10	1,2	1,2	2,0	1,4	1,9	1,1	2,0	2,0	1,2	1,5										1,6
325	N 0,2 M	I	7,0	10	10	100%	10	0,7	1,0	2,5	1,3	1,2	1,0	0,7	0,7	0,5	1,0						1,1	0,8	0,2	93%	6%
326		II	7,0	10	9	90%	9	1,0	0,8	1,1	1,2	0,5	0,6	0,7	0,7	0,6						0,8					
327		III	7,0	10	9	90%	9	0,7	0,7	0,6	0,4	0,4	0,3	0,6	0,5	1,0						0,6					

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento									Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.		
328	CONTR.	I	7,0	10	9	90%	9	3,8	3,9	2,6	4,5	2,5	4,0	4,1	4,0	4,7	3,8						
329		II	7,0	10	10	100%	10	4,7	5,2	2,6	2,6	2,5	3,8	3,4	4,6	3,8	3,8	3,9	0,4	97%	6%		
330		III	7,0	10	10	100%	10	4,0	4,6	4,7	4,6	3,7	4,6	4,3	4,2	4,2	4,6	4,4					
331	E1' 10%	I	7,0	10	10	100%	10	3,8	3,0	2,9	3,7	2,7	1,7	5,2	3,2	2,4	2,7	3,1					
332		II	7,0	10	8	80%	8	4,2	4,2	3,1	3,0	4,4	3,2	2,1	1,3		3,2	3,4	0,4	93%	12%		
333		III	7,0	10	10	100%	9	3,8	2,8	2,6	4,8	3,3	3,8	4,7	4,1	4,0		3,8					
334	E1' 20%	I	7,0	10	10	100%	10	3,5	1,9	3,6	3,6	3,8	4,5	3,1	2,8	3,1	1,1	3,1					
335		II	7,0	10	10	100%	10	2,5	2,5	3,2	3,9	2,1	4,0	1,7	3,0	3,5	2,0	2,8	2,9	0,2	97%	6%	
336		III	7,0	10	9	90%	9	2,1	2,3	3,6	3,0	3,0	2,7	2,7	3,0	3,0		2,8					
337	E1' 50%	I	7,5	10	10	100%	9	1,3	0,9	1,0	2,4	2,0	1,4	1,3	1,0	0,9		1,4					
338		II	7,5	10	10	100%	9	1,6	2,8	2,5	2,4	1,9	2,2	2,1	2,4	2,4		2,3	1,9	0,5	100%	0%	
339		III	7,5	10	10	100%	10	1,2	1,7	1,7	2,8	2,6	2,6	2,6	2,9	2,3	1,5	2,2					
340	E1' 100%	I	8,0	10	10	100%	6	0,3	0,5	1,0	0,3	0,7	0,7				0,6						
341		II	8,0	10	10	100%	6	0,3	0,6	0,7	0,7	0,5	0,9				0,6	0,5	0,2	97%	6%		
342		III	8,0	10	9	90%	4	0,2	0,2	0,2	0,2						0,2						
343	S1' 10%	I	7,0	10	10	100%	10	4,1	2,5	2,8	3,4	2,8	2,3	2,7	3,8	3,0	0,5	2,8					
344		II	7,0	10	10	100%	10	2,7	2,5	3,0	4,4	3,0	3,1	3,0	3,5	1,4	2,5	2,9	2,9	0,1	97%	6%	
345		III	7,0	10	9	90%	9	2,5	2,6	3,5	3,1	3,7	2,6	3,4	1,0	3,4		2,9					
346	S1' 20%	I	7,0	10	10	100%	8	3,0	3,4	3,1	3,1	2,4	2,1	2,3	2,5		2,7						
347		II	7,0	10	10	100%	10	3,0	2,9	2,8	2,1	1,5	3,7	3,7	3,2	2,9	2,7	2,9	2,8	0,1	100%	0%	
348		III	7,0	10	10	100%	10	3,1	3,0	2,7	2,2	3,4	2,9	2,8	3,1	3,0	2,7	2,9					
349	S1' 50%	I	7,5	10	10	100%	10	2,5	2,7	1,7	1,0	1,1	2,6	1,9	1,7	1,0	1,4	1,8					
350		II	7,5	11	11	100%	11	2,4	0,7	1,0	0,9	2,3	1,3	3,0	2,6	2,6	1,7	1,2	1,7	1,7	0,1	100%	0%
351		III	7,5	10	10	100%	9	1,6	1,5	3,4	1,3	2,0	2,0	1,0	1,3	0,7		1,6					
352	S1' 100%	I	8,0	10	10	100%	10	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,6	0,8	1,1	0,6	0,7	0,5					
353		II	8,0	10	10	100%	2	0,2	0,3									0,3	0,3	0,3	100%	0%	
354		III	8,0	10	10	100%	0	-										0,0					
355	CBR' 10%	I	7,0	10	10	100%	10	2,7	4,1	3,1	4,2	4,4	3,0	3,6	4,3	3,5	3,9	3,7					
356		II	7,0	10	10	100%	9	3,0	3,0	2,5	2,5	3,0	4,6	3,6	1,8	2,3		2,9	3,1	0,5	100%	0%	
357		III	7,0	10	10	100%	10	2,3	3,9	3,5	2,9	3,2	1,5	2,7	2,9	1,4	3,5	2,8					

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Germ.	% Germ.	Cresc.	Crescimento									Média	Média Cresc.	DP Cresc.	Média Germ.	DP Germ.	
358	CBR' 20%	I	7,0	10	9	90%	9	2,9	3,2	2,7	2,4	2,4	3,8	3,8	2,4	1,9	2,8	2,5	0,3	97%	6%	
359		II	7,0	10	10	100%	10	2,3	3,4	1,9	1,6	2,3	2,3	2,5	2,2	2,2	2,2					
360		III	7,0	10	10	100%	10	1,5	2,0	2,4	2,6	3,0	2,6	2,7	3,1	2,9	2,5					
361	CBR' 50%	I	7,0	10	9	90%	9	2,9	2,8	3,3	2,7	2,1	1,7	3,1	2,8	3,0	2,7	2,8	0,1	97%	6%	
362		II	7,0	10	10	100%	10	2,3	4,0	2,7	2,6	2,2	2,2	2,6	2,8	3,3	3,5					
363		III	7,0	10	10	100%	10	3,5	2,8	3,3	2,6	3,4	2,4	3,1	2,6	2,3	3,3					
364	CBR' 100%	I	8,0	10	10	100%	10	1,3	0,9	0,5	0,7	0,6	1,1	0,6	1,0	0,9	1,0	0,9	1,1	0,5	100%	0%
365		II	8,0	10	10	100%	10	3,2	1,7	1,2	1,1	1,4	1,8	1,5	1,7	1,4	1,0					
366		III	8,0	10	10	100%	10	0,9	0,6	0,7	1,1	0,8	0,7	0,5	0,3							

**N°** (Número do ensaio); **Amostras** (Tipo de amostra e diluição); **Rep.** (Número de triplicata) **Total** (Número de sementes colocadas na placa de Petry); **Germ.** (Número de sementes germinadas); **% Germ.** (% da germinação das sementes de alface); **Cres.** (Número de sementes que quando germinadas, apresentaram algum crescimento); **Crescimento** (Valores para crescimento de raiz das sementes); **Média** (Média dos valores de crescimento de raiz das sementes); **Média Cresc.** (Média do crescimento de raiz); **DP Cresc.** (Desvio padrão dos valores de crescimento de raiz das sementes de alface); **Média Germ.** (Média dos valores de germinação das sementes); **DP Germ.** (Desvio padrão dos valores de germinação das sementes); **E2** (Entrada Reator 2); **S2** (Saída Reator 2); **CBR** (Saída CBR) **E1** (Entrada Reator 1); **S1** (Saída Reator 1); **B** (Efluente Bruto); **L** (Lixiviado); **IB** (Efluente Industrial Bruto); **IT** (Efluente Industrial Tratado); **EV** (Efluente Vinícola); **EHB** (Efluente Hospitalar Bruto); **ELA-EU** (Entrada Lagoas Aeradas - Efluente urbano); **SLA-EU** (Saída Lagoas Aeradas - Efluente Urbano).

Tabela. Ensaios realizados com microcrustáceo *Artemia salina*.

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
1	CONTROLE	I	7,0	10		0%	0%	0%
2		II	7,0	10		0%		
3		III	7,0	10		0%		
4	S2 2%	I	7,0	10		0%	3%	6%
5		II	7,0	10	1	10%		
6		III	7,0	10		0%		
7	S2 10%	I	7,0	10	1	10%	10%	1%
8		II	7,0	10	1	10%		
9		III	7,0	11	1	9%		
10	S2 20%	I	7,0	11		0%	0%	0%
11		II	7,0	10		0%		
12		III	7,0	10		0%		
13	S2 50%	I	8,0	10		0%	0%	0%
14		II	8,0	10		0%		
15		III	8,0	10		0%		
16	E1/E2 2%	I	7,0	10		0%	3%	6%
17		II	7,0	10		0%		
18		III	7,0	10	1	10%		
19	E1/E2 10%	I	7,0	10		0%	0%	0%
20		II	7,0	10		0%		
21		III	7,0	10		0%		
22	E1/E2 20%	I	7,0	10		0%	3%	6%
23		II	7,0	10	1	10%		
24		III	7,0	10		0%		
25	E1/E2 50%	I	8,0	10	1	10%	13%	6%
26		II	8,0	10	1	10%		
27		III	8,0	10	2	20%		
28	L 2%	I	8,0	10	1	10%	3%	6%
29		II	8,0	10		0%		
30		III	8,0	10		0%		
31	L 10%	I	8,0	10		0%	0%	0%
32		II	8,0	10		0%		
33		III	8,0	10		0%		
34	L 20%	I	8,0	10		0%	3%	6%
35		II	8,0	10	1	10%		
36		III	8,0	10		0%		
37	L 50%	I	8,0	10	4	40%	40%	0%
38		II	8,0	10	4	40%		
39		III	8,0	10	4	40%		
40	B 2%	I	6,5	10	1	10%	7%	6%
41		II	6,5	10		0%		
42		III	6,5	10	1	10%		
43	B 10%	I	6,5	10		0%	0%	0%
44		II	6,5	10		0%		
45		III	6,5	10		0%		



Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
46	B 20%	I	7,0	10		0%	0%	0%
47		II	7,0	10		0%		
48		III	7,0	10		0%		
49	B 50%	I	7,0	10		0%	0%	0%
50		II	7,0	10		0%		
51		III	7,0	10		0%		
52	K 0,01 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%
53		II	6,5	10		0%		
54		III	6,5	10		0%		
55	K 0,1 ppm	I	6,5	10	2	20%	20%	0%
56		II	6,5	10	2	20%		
57		III	6,5	10	2	20%		
58	K 1 ppm	I	6,5	10	3	30%	27%	6%
59		II	6,5	10	2	20%		
60		III	6,5	10	3	30%		
61	K 10 ppm	I	6,5	10	3	30%	33%	6%
62		II	6,5	10	3	30%		
63		III	6,5	10	4	40%		
64	K 100 ppm	I	6,5	10	10	100%	97%	6%
65		II	6,5	10	9	90%		
66		III	6,5	10	10	100%		
67	CONTROLE	I	6,5	10		0%	0%	0%
68		II	6,5	10		0%		
69		III	6,5	10		0%		
70	K 0,01 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%
71		II	6,5	10		0%		
72		III	6,5	10		0%		
73	K 1 ppm	I	6,5	11		0%	0%	0%
74		II	6,5	10		0%		
75		III	6,5	10		0%		
76	K 10 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%
77		II	6,5	11	9	82%		
78		III	6,5	10	8	80%		
79	IB 10%	I	6,0	10		0%	0%	0%
80		II	6,0	10		0%		
81		III	6,0	10		0%		
82	IB 20%	I	6,0	10		0%	0%	0%
83		II	6,0	10		0%		
84		III	6,0	10		0%		
85	IB 50%	I	6,0	10		0%	6%	6%
86		II	6,0	10	1	10%		
87		III	6,0	11	1	9%		

N°	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
88	IB 100%	I	7,0	10		0%	0%	0%
89		II	7,0	10		0%		
90		III	7,0	10		0%		
91	IT 10%	I	6,0	11	1	9%	3%	5%
92		II	6,0	10		0%		
93		III	6,0	10		0%		
94	IT 20%	I	6,0	13	1	8%	6%	5%
95		II	6,0	10		0%		
96		III	6,0	11	1	9%		
97	IT 50%	I	7,0	10		0%	0%	0%
98		II	7,0	10		0%		
99		III	7,0	10		0%		
100	IT 100%	I	7,0	10		0%	0%	0%
101		II	7,0	10		0%		
102		III	7,0	10		0%		
103	S1 10%	I	7,0	10		0%	0%	0%
104		II	7,0	10		0%		
105		III	7,0	11		0%		
106	S1 20%	I	7,0	11	1	9%	3%	5%
107		II	7,0	10		0%		
108		III	7,0	10		0%		
109	S1 50%	I	7,0	10		0%	0%	0%
110		II	7,0	11		0%		
111		III	7,0	10		0%		
112	S1 100%	I	7,0	12	1	8%	6%	5%
113		II	7,0	10	1	10%		
114		III	7,0	10		0%		
115	S2 2 10%	I	6,5	11	1	9%	6%	6%
116		II	6,5	10		0%		
117		III	6,5	10	1	10%		
118	S2 2 20%	I	7,0	10		0%	0%	0%
119		II	7,0	10		0%		
120		III	7,0	10		0%		
121	S2 2 50%	I	7,0	9	1	11%	6%	6%
122		II	7,0	10		0%		
123		III	7,0	12	1	8%		
124	S2 2 100%	I	7,5	10		0%	0%	0%
125		II	7,5	10		0%		
126		III	7,5	10		0%		
127	CBR 10%	I	6,0	10		0%	0%	0%
128		II	6,0	10		0%		
129		III	6,0	10		0%		
130	CBR 20%	I	7,0	10		0%	0%	0%
131		II	7,0	10		0%		
132		III	7,0	11		0%		

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade	
133	CBR 50%	I	7,0	10	1	0%	4%	6%	
134		II	7,0	10		0%			
135		III	7,0	9		11%			
136	CBR 100%	I	7,0	10		0%	0%	0%	
137		II	7,0	10		0%			
138		III	7,0	10		0%			
139	CONTROLE	I	7,0	10		0%	3%	6%	
140		II	7,0	10		0%			
141		III	7,0	10		1			10%
142	K 0,01 ppm	I	6,5	10	1	10%	3%	6%	
143		II	6,5	10		0%			
144		III	6,5	10		0%			
145	K 0,1 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%	
146		II	6,5	10		0%			
147		III	6,5	10		0%			
148	K 1 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%	
149		II	6,5	10		0%			
150		III	6,5	10		0%			
151	K 10 ppm	I	6,5	10		0%	0%	0%	
152		II	6,5	10		0%			
153		III	6,5	10		0%			
154	K 100 ppm	I	6,5	9	8	89%	83%	5%	
155		II	6,5	10		8			80%
156		III	6,5	10		8			80%
157	EV 1%	I	8,0	10		0%	0%	0%	
158		II	8,0	10		0%			
159		III	8,0	10		0%			
160	EV 10%	I	4,0	10		0%	0%	0%	
161		II	4,0	10		0%			
162		III	4,0	10		0%			
163	EV 20%	I	8,0	10		0%	0%	0%	
164		II	8,0	10		0%			
165		III	8,0	10		0%			
166	EV 50%	I	7,0	10	1	10%	3%	6%	
167		II	7,0	10		0%			
168		III	7,0	10		0%			
169	EV 100%	I	7,0	12	8	67%	76%	8%	
170		II	7,0	10		8			80%
171		III	7,0	10		8			80%
172	CONTROLE	I	6,5	10		0%	0%	0%	
173		II	6,5	10		0%			
174		III	6,5	10		0%			
175	K 0,01 ppm	I	6,5	11		0%	0%	0%	
176		II	6,5	11		0%			
177		III	6,5	10		0%			

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
178	K 0,1 ppm	I	6,5	10	1	10%	3%	6%
179		II	6,5	10		0%		
180		III	6,5	9		0%		
181	K 1 ppm	I	6,5	11		0%	0%	0%
182		II	6,5	11		0%		
183		III	6,5	10		0%		
184	K 10 ppm	I	6,5	10	5	50%	43%	6%
185		II	6,5	10	4	40%		
186		III	6,5	10	4	40%		
187	K 100 ppm	I	6,5	10	10	100%	100%	0%
188		II	6,5	10	10	100%		
189		III	6,5	11	11	100%		
190	EH 10%	I	6,5	10	1	10%	3%	6%
191		II	6,5	11		0%		
192		III	6,5	10		0%		
193	EH 20%	I	6,5	10		0%	3%	5%
194		II	6,5	11	1	9%		
195		III	6,5	11		0%		
196	EH 50%	I	7,0	7	3	43%	40%	3%
197		II	7,0	10	4	40%		
198		III	7,0	11	4	36%		
199	EH 100%	I	7,0	12	7	58%	61%	8%
200		II	7,0	10	7	70%		
201		III	7,0	11	6	55%		
202	ELA-EU 10%	I	6,5	10	1	10%	3%	6%
203		II	6,5	10		0%		
204		III	6,5	11		0%		
205	ELA-EU 20%	I	6,5	10		0%	0%	0%
206		II	6,5	11		0%		
207		III	6,5	10		0%		
208	ELA-EU 50%	I	6,5	11		0%	3%	5%
209		II	6,5	11	1	9%		
210		III	6,5	9		0%		
211	ELA-EU 100%	I	7,0	10		0%	3%	6%
212		II	7,0	10		0%		
213		III	7,0	10	1	10%		
214	SLA-EU 10%	I	6,5	13		0%	0%	0%
215		II	6,5	8		0%		
216		III	6,5	11		0%		
217	SLA-EU 20%	I	6,5	11		0%	3%	6%
218		II	6,5	12		0%		
219		III	6,5	10	1	10%		
220	SLA-EU 50%	I	6,5	13		0%	0%	0%
221		II	6,5	10		0%		
222		III	6,5	11		0%		

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
223	SLA-EU 100%	I	6,5	10		0%	0%	0%
224		II	6,5	9		0%		
225		III	6,5	12		0%		
226	CONTROLE	I	6,5	8		0%	3%	6%
227		II	6,5	10	1	10%		
228		III	6,5	10		0%		
229	K 0,01 ppm	I	6,5	10		0%	3%	6%
230		II	6,5	10		0%		
231		III	6,5	10	1	10%		
232	K 0,1 ppm	I	6,5	9	1	11%	14%	5%
233		II	6,5	10	2	20%		
234		III	6,5	9	1	11%		
235	K 1 ppm	I	6,5	6	1	17%	14%	4%
236		II	6,5	11	1	9%		
237		III	6,5	12	2	17%		
238	K 10 ppm	I	6,5	10	8	80%	84%	5%
239		II	6,5	11	9	82%		
240		III	6,5	10	9	90%		
241	K 100 ppm	I	6,5	9	9	100%	100%	0%
242		II	6,5	10	10	100%		
243		III	6,5	11	11	100%		
244	S2' 10%	I	7,0	10		0%	0%	0%
245		II	7,0	10		0%		
246		III	7,0	10		0%		
247	S2' 20%	I	7,0	10		0%	0%	0%
248		II	7,0	11		0%		
249		III	7,0	10		0%		
250	S2' 50%	I	7,0	12		0%	0%	0%
251		II	7,0	10		0%		
252		III	7,0	11		0%		
253	S2' 100%	I	7,0	10		0%	0%	0%
254		II	7,0	11		0%		
255		III	7,0	11		0%		
256	E2' 10%	I	7,0	12		0%	0%	0%
257		II	7,0	10		0%		
258		III	7,0	9		0%		
259	E2' 20%	I	6,0	10		0%	0%	0%
260		II	6,0	10		0%		
261		III	6,0	9		0%		
262	E2' 50%	I	7,0	12		0%	0%	0%
263		II	7,0	10		0%		
264		III	7,0	10		0%		
265	E2' 100%	I	8,0	10		0%	3%	5%
266		II	8,0	12	1	8%		
267		III	8,0	9		0%		

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
268	L' 10%	I	7,0	9		0%	0%	0%
269		II	7,0	13		0%		
270		III	7,0	10		0%		
271	L' 20%	I	8,0	10		0%	0%	0%
272		II	8,0	10		0%		
273		III	8,0	10		0%		
274	L' 50%	I	8,0	10	2	20%	13%	6%
275		II	8,0	10	1	10%		
276		III	8,0	10	1	10%		
277	L' 100%	I	8,0	10	9	90%	97%	6%
278		II	8,0	10	10	100%		
279		III	8,0	10	10	100%		
280	B' 10%	I	6,5	10		0%	0%	0%
281		II	6,5	10		0%		
282		III	6,5	10		0%		
283	B' 20%	I	6,5	10		0%	0%	0%
284		II	6,5	10		0%		
285		III	6,5	10		0%		
286	B' 50%	I	6,5	12	2	17%	6%	10%
287		II	6,5	10		0%		
288		III	6,5	10		0%		
289	B' 100%	I	6,5	10		0%	3%	5%
290		II	6,5	11	1	9%		
291		III	6,5	10		0%		
292	CONTROLE	I	6,5	11	1	9%	10%	1%
293		II	6,5	9	1	11%		
294		III	6,5	11	1	9%		
295	K 0,01 ppm	I	6,5	10	2	20%	11%	10%
296		II	6,5	10		0%		
297		III	6,5	8	1	13%		
298	K 0,1 ppm	I	6,5	8	2	25%	23%	3%
299		II	6,5	12	3	25%		
300		III	6,5	10	2	20%		
301	K 1 ppm	I	6,5	9	4	44%	47%	3%
302		II	6,5	11	5	45%		
303		III	6,5	10	5	50%		
304	K 10 ppm	I	6,5	5	4	80%	82%	2%
305		II	6,5	6	5	83%		
306		III	6,5	6	5	83%		
307	K 100 ppm	I	6,5	10	10	100%	100%	0%
308		II	6,5	10	10	100%		
309		III	6,5	10	10	100%		
310	E1' 10%	I	7,0	13		0%	4%	6%
311		II	7,0	11		0%		
312		III	7,0	9	1	11%		

Nº	Amostra	Rep.	pH	Total	Mortas	%	Média Mortalidade	DP Mortalidade
313	E1' 20%	I	7,0	10		0%	0%	0%
314		II	7,0	11		0%		
315		III	7,0	10		0%		
316	E1' 50%	I	7,5	10		0%	0%	0%
317		II	7,5	11		0%		
318		III	7,5	8		0%		
319	E1' 100%	I	8,0	11	1	9%	10%	1%
320		II	8,0	10	1	10%		
321		III	8,0	9	1	11%		
322	S1' 10%	I	7,0	10		0%	3%	6%
323		II	7,0	10		0%		
324		III	7,0	10	1	10%		
325	S1' 20%	I	7,0	10		0%	3%	6%
326		II	7,0	10	1	10%		
327		III	7,0	11		0%		
328	S1' 50%	I	7,5	10	1	10%	6%	6%
329		II	7,5	11		0%		
330		III	7,5	11	1	9%		
331	S1' 100%	I	8,0	11	1	9%	6%	5%
332		II	8,0	9		0%		
333		III	8,0	12	1	8%		
334	CBR' 10%	I	7,0	16		0%	0%	0%
335		II	7,0	15		0%		
336		III	7,0	10		0%		
337	CBR' 20%	I	7,0	8	1	13%	7%	6%
338		II	7,0	11		0%		
339		III	7,0	12	1	8%		
340	CBR' 50%	I	7,0	9	1	11%	4%	6%
341		II	7,0	10		0%		
342		III	7,0	9		0%		
343	CBR' 100%	I	8,0	10		0%	0%	0%
344		II	8,0	10		0%		
345		III	8,0	9		0%		

( ' ) refere-se a segunda coleta nos mesmos pontos

**Nº** (Número do ensaio); **Amostras** (Tipo de amostra e diluição); **Rep.** (Número de triplicata) **Total** (Número de Artemias no tubo); **Mortas** (Número de Artemias mortas/imóveis); **%** (% da Mortalidade de Artemias); **Média Mortalidade** (Média dos valores de mortalidade); **DP Mortalidade** (Desvio padrão dos valores de mortalidade); **E2** (Entrada Reator 2); **S2** (Saída Reator 2); **CBR** (Saída CBR) **E1** (Entrada Reator 1); **S1** (Saída Reator 1); **B** (Efluente Bruto); **L** (Lixiviado); **IB** (Efluente Industrial Bruto); **IT** (Efluente Industrial Tratado); **EV** (Efluente Vinícola); **EHB** (Efluente Hospitalar Bruto); **ELA-EU** (Entrada Lagoas Aeradas - Efluente urbano); **SLA-EU** (Saída Lagoas Aeradas - Efluente Urbano).