

**III-421 – TESTE DE TOXICIDADE UTILIZANDO ARTEMIA SALINA E CERIODAPHNIA DUBIA PARA CARACTERIZAÇÃO DE LIXIVIADO PROVENIENTE DE ATERRO DE RESÍDUOS SÓLIDOS URBANOS - RSU**

**Flávia Kawahigashi**

Química pela Universidade Estadual de Londrina (UEL). Mestranda em Engenharia de Edificações e Saneamento pela mesma instituição.

**Aline Domingues Batista**

Graduanda em Química – Bacharelado na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

**Laira Lúcia Damasceno Oliveira**

Bióloga pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental pela Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. Doutoranda em Ciências da Engenharia Ambiental pela mesma instituição

**Sandra Márcia Cesário Pereira da Silva**

Engenheira Civil pela Universidade Estadual de Londrina. Mestre em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo – EESC-USP. Doutora em Engenharia Civil pela Escola Politécnica – Universidade de São Paulo. Pós-doutora em Saneamento pela mesma instituição. Docente do Departamento de Construção Civil da Universidade Estadual de Londrina.

**Odete Rocha**

Possui graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. Mestre em Ecologia pela Universidade de São Paulo – USP e Doutora em Zoologia pela University of London. Docente da Universidade Federal de São Carlos.

**Emília Kiyomi Kuroda<sup>(1)</sup>**

Engenheira Civil pela Escola de Engenharia de São Carlos Universidade de São Paulo – EESC-USP. Mestre e doutora em Hidráulica e Saneamento pela mesma instituição. Pós-doutora pela Meijo University, Japão. Docente do Departamento de Construção Civil da Universidade Estadual de Londrina

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Universidade Estadual de Londrina - UEL. Rodovia Celso Garcia Cid PR 445 Km 380 Campus Universitário. Cx Postal 6001 – CEP: 86051-980. Londrina-PR - Brasil - Tel: (43)3371-4815 - E-mail: [ekuroda@uel.br](mailto:ekuroda@uel.br)

**RESUMO**

A decomposição de resíduos proveniente de aterro de resíduos sólidos domiciliares resulta na produção de um líquido com alto potencial poluidor chamado de lixiviado. A presença de carga tóxica impõe a aplicação de um tratamento eficaz na remoção de contaminantes antes que seja lançada em corpos receptores. As técnicas utilizadas para o tratamento do lixiviado muitas vezes não resultam na produção de um efluente de qualidade em relação à toxicidade, o que impõe na necessidade de seu controle, de forma que este não cause efeitos tóxicos de efeito agudo ou crônico ao meio ambiente. No presente trabalho, foram utilizados dois organismos-teste para avaliação da toxicidade aguda, os microcrustáceos *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia*. Os efluentes de estudo foram o lixiviado bruto, o tratado por processo biológico e o tratado por processo físico-químico de coagulação -floculação-sedimentação, utilizando como coagulantes o cloreto férrico - CF e o hidróxi-policloreto de alumínio – PAC. Os testes de toxicidade aguda com os organismos-teste *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia* indicaram que o lixiviado bruto é tóxico mesmo após tratamento biológico por lodos ativados por processo aeróbio para nitrificação e desnitrificação por via curta, mediante adição de etanol precedido de tratamento preliminar de *air stripping* e tratamento físico-químico utilizando cloreto férrico - CF e hidróxi-cloreto de polialumínio – PAC. Para todos os testes de toxicidade realizados, pôde-se observar que o tratamento biológico reduziu a toxicidade do lixiviado bruto, provavelmente devido à remoção de N-amoniaco. Em relação aos efluentes tratados por processo físico-químico, a toxicidade do efluente tratado por PAC, foi maior em ambos os organismos testados. Considerando a redução de matéria orgânica recalcitrante ao longo dos processos de tratamento, a utilização da *Ceriodaphnia dubia* como organismo-teste apresentou resultados mais satisfatórios em relação à *Artemia salina*.

**PALAVRAS-CHAVE:** lixiviado, teste de toxicidade, *Artemia salina*, *Ceriodaphnia dubia*

## INTRODUÇÃO

A decomposição física, química e biológica de resíduos sólidos domiciliares em aterros sanitários resulta na produção de um líquido de coloração escura, chamado de lixiviado, percolado ou chorume. Este tem como característica altas concentrações de nitrogênio amoniacal, matéria orgânica e compostos orgânicos de difícil degradação, como por exemplo, as substâncias húmicas, o que dificulta o seu tratamento somente através de processos biológicos. Assim, o emprego adicional de processos físicos e químicos a exemplo dos que compõem a técnica de ciclo completo (coagulação – floculação / sedimentação) como pós-tratamento de lixiviado tratado biologicamente, pode constituir uma alternativa viável para aumentar a eficiência do tratamento desse tipo de efluente.

Por outro lado, sabe-se que as análises físicas e químicas (qualitativa e quantitativa) não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente. Assim, é de fundamental importância que as pesquisas relacionadas ao meio ambiente sejam desenvolvidas associando as análises físico-químicas e os testes de toxicidade – bioensaios.

Além disso, as técnicas de tratamento comumente empregadas asseguram a qualidade do efluente em relação à toxicidade, impondo-se dessa forma a necessidade de seu controle, de forma que este não cause efeitos tóxicos de natureza aguda ou crônica ao meio ambiente.

Segundo Silva (2002), os testes de toxicidade/bioensaios visam observar os efeitos sobre as funções biológicas fundamentais como mudança de apetite, crescimento, metabolismo reprodutivo, diminuição da taxa de natalidade em decorrência de alterações das células reprodutoras e/ou por anomalias no processo de desenvolvimento embrio-larval, bem como de mutações ou morte.

Os testes ecotoxicológicos foram introduzidos na Resolução 357/2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. No Capítulo IV desta resolução, no que diz respeito às condições e padrões de lançamento de efluentes, é estabelecido nos § 1 e 2 do Artigo 34, que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos.

Diante disso, o objetivo do presente trabalho é avaliar o efeito agudo empregando organismos padronizados, *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia* para a caracterização complementar de lixiviado proveniente de aterro de RSU antes e após diferentes tipos de tratamento biológico e físico-químico.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção do lixiviado de estudo

O lixiviado utilizado no estudo é proveniente do Aterro Controlado do Município de Londrina – PR, o qual recebe resíduos sólidos urbanos desde 1974 e ocupa uma área estimada de 19,23 ha, localizada a 7 km do centro da cidade. O clima predominante é o subtropical úmido e a temperatura anual média na região é de 22,5°C. O Município de Londrina tem aproximadamente 500.000 habitantes e produz em média 420 t/d de resíduos domiciliares, 200 t/d de resíduos de construção civil, 60 t/d de resíduos particulares (industriais e comerciais) e 0,89 t/d de resíduos hospitalares (SOARES, 2006).

O lixiviado bruto foi coletado e submetido ao tratamento preliminar de *air stripping* para remoção parcial de N-amoniacal através da volatilização da amônia livre ( $\text{NH}_3$ ). Em seguida, o lixiviado foi encaminhado ao tratamento biológico em regime intermitente composto por processo de lodos ativados por processo aeróbio para nitrificação, seguida por processo anóxico, para desnitrificação por via curta, mediante adição de etanol como fonte de carbono. Posteriormente, foi realizada a separação do efluente e da massa de organismos (lodo) através da utilização de um sedimentador para a obtenção do lixiviado tratado biologicamente com remoção da série nitrogenada (FELICI, 2010).

A obtenção do lixiviado tratado por processo físico-químico foi realizada por meio da técnica de coagulação química-floculação-sedimentação em escala de bancada, com a utilização de 2 tipos de coagulantes químicos: Tipo A: cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) - CF e Tipo B: hidróxi-cloreto de polialumínio ( $\text{Al}_x(\text{H}_2\text{O})(6x-2y)(\text{OH})_y\text{Cl}(3x-y)$ ) - PAC.

### Testes de toxicidade utilizando *Artemia salina* como organismo teste

Para preparação da solução salina artificial, os sais foram dissolvidos totalmente por auxílio de sonicação em água deionizada. A composição da solução salina artificial é apresentada na Tabela 1.

**Tabela 1: Composição da solução salina artificial**

Constituinte	Concentração (g/L)
NaCl	24,0
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1,5
KBr	0,1
KCl	0,7
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	4,0
NaHCO <sub>3</sub>	0,2
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	11,0

### Eclosão dos ovos de *artemia*

Para eclosão dos ovos de *Artemia salina* (de alta eclosão da Maramar Aquacultura Com. Imp. Exp. Ltda – ME), estes foram incubados por 48 h, em solução salina (concentração máxima de 3 mg/mL) com pH entre 8 e 9, à temperatura de 27 a 30°C, iluminação de 60-100 W, em uma caixa plástica compartimentada por divisória contendo orifícios (da ordem de 2 mm) uniformemente distribuídos, de forma a permitir a passagem de náuplios de *Artemias*, por fototropismo, após impedimento de passagem de luz em um dos compartimentos com papel alumínio. Na Figura 1a é apresentada uma foto onde podem ser visualizados os ovos e náuplios de *Artemias salina*.

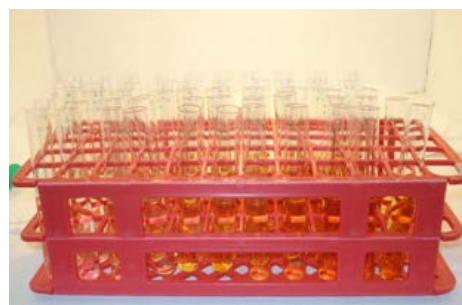
### Teste de toxicidade com *Artemia salina*

Os testes preliminares foram realizados em tubos de ensaio de vidro de 10 mL em 4 réplicas para cada uma das concentrações para 5 mL de volume total. Após preparação de todos os tubos com as concentrações preestabelecidas, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, colocava-se de 9 a 12 náuplios de *Artemia* por tubo, e estes eram mantidos sob iluminação à temperatura de 27 a 30°C por 24 h. O controle negativo (branco) foi realizado com a solução salina e o controle positivo, com solução de dicromato de potássio em meio salino com concentração de 0,2 g.L<sup>-1</sup>. Na Figura 1b é apresentada uma foto dos tubos preparados para a realização do teste de toxicidade com *Artemia salina*.

Após 24 h de exposição, o número de *Artemias* vivas e mortas em cada tubo era quantificado para posteriormente, determinar a concentração de extrato seco da amostra que causou mortalidade de 50% dos organismos após exposição de 24 h - CL50<sub>24h</sub> nas condições do teste. A CL50<sub>24h</sub> foi obtida por cálculo estatístico usando o programa Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.*, 1977) com intervalo de confiança de 95%.



a) Ovos e náuplios de *Artemias salina*



b) Tubos (quadruplicata) / Teste de toxicidade com *Artemia salina*

**Figura 1: Foto de ovos e náuplios de *Artemias salina* e dos tubos / Teste de toxicidade com *Artemia salina***

## Testes de toxicidade utilizando *Ceriodaphnia dubia* como organismo teste

### Manutenção e cultivo de *Ceriodaphnia dubia*

A cepa de *Ceriodaphnia dubia* - microcrustáceo de água doce foi cedida pelo Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos –DEBE-UFSCar, e foi mantido em incubadora com temperatura controlada de 25°C e fotoperíodo de 12h. Seu cultivo foi realizado seguindo normas padronizadas (ABNT, 2005), em água reconstituída com adição de soluções específicas (Solução 1: 1,5g de  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  em 1000mL de água destilada; Solução 2: 0,2g de KCl, 4,8g de  $\text{NaHCO}_3$ , 6,1g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  em 1000mL de água destilada) para atingir as seguintes características: pH 7,0 - 7,6 e dureza entre 40 e 48  $\text{mgCaCO}_3\text{L}^{-1}$ , sendo esta aerada por um período de 24 h. O microcrustáceo foi alimentado com suspensão algal de *Pseudokirchneriella subcapitata* na concentração de  $2 \times 10^5$  cél.mL<sup>-1</sup>.org<sup>-1</sup> e alimento composto constituído de levedura e ração de peixe Tetramin fermentada numa concentração de 1mL.L<sup>-1</sup>.



a) Cultivo de *C. dubia*



b) Cultivo de *P. subcapitata*

**Figura 2: Foto de Cultivo de *Ceriodaphnia dubia* e de *Pseudokirchneriella subcapitata***

### Teste de toxicidade com *Ceriodaphnia dubia*

Os testes de toxicidade utilizando *C. dubia*, consistiram na exposição de 5 neonatas com idade entre 6 e 24 horas para diferentes diluições das amostras com água reconstituída. Para cada concentração da amostra foram feitas 3 réplicas e um controle (água reconstituída). Os experimentos foram mantidos sob temperatura de 25°C e sem iluminação e alimentação. No início e final dos testes foram realizadas as medidas dos parâmetros de pH, condutividade e dureza. Após o período de exposição procedeu-se à contagem dos organismos imóveis e seus resultados foram expressos como concentração efetiva mediana da substância que causa efeito a 50% da população exposta (Hamilton *et al.*, 1977) após 24 - CE50<sub>24h</sub> ou 48 horas - CE50<sub>48h</sub> obtidas por cálculo estatístico usando o programa Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.* 1977) com intervalo de confiança de 95%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No capítulo IV da Resolução nº 357/05 do CONAMA referente às condições e padrões de lançamento de efluentes, é estabelecido nos § 1 e 2 do artigo 34 que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados utilizando organismos aquáticos. Assim, é de fundamental importância que as pesquisas no setor de saneamento sejam desenvolvidas associando as técnicas de tratamento, as análises físico-químicas e os testes de toxicidade, pois a avaliação deve ser feita de forma complementar.

Para caracterização do lixiviado (Tabela 2), as análises dos parâmetros foram realizadas de acordo com o APHA, AWWA, WEF (2005), exceto a análise de Nitrito que foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cataldo (1975).

Em relação ao tratamento físico-químico por meio do processo de coagulação química-floculação-sedimentação em escala de bancada, foi realizado mediante uso da técnica de planejamento fatorial de experimentos para otimização das seguintes variáveis: dosagem de coagulante, pH e gradientes de mistura. Este tratamento mostrou resultados satisfatórios de remoção de cor verdadeira e DQO do lixiviado, alcançando remoções de até:

- 98,1% de cor verdadeira (cor verdadeira inicial de 5.052 uH e final de 96 uH) e 80,9% de DQO (DQO inicial de 2267 mg.L<sup>-1</sup> e final de 433 mg.L<sup>-1</sup>) com emprego de cloreto férrico – CF como coagulante.
- 97,3% de cor verdadeira (cor verdadeira inicial de 4.963 uH e final de 134 uH) e 73,5% de DQO (DQO inicial de 2.260mg.L<sup>-1</sup> e final de 599 mg.L<sup>-1</sup>) com emprego de hidroxícloreto de polialumínio - PAC como coagulante.



Lixiviado bruto

Lixiviado tratado  
biologicamenteLixiviado tratado  
físico-químico com  
coagulate tipo A - CFLixiviado tratado  
físico-químico com  
coagulate tipo B - PAC

**Figura 3 - Fotos dos lixiviados bruto, tratado biologicamente e lixiviados tratados por coagulação química (coagulante tipo A e tipo B) – floculação – sedimentação**

**Tabela 2 – Caracterização do lixiviado bruto, tratado biologicamente e tratados por coagulação química (coagulante tipo A e tipo B) – floculação – sedimentação / FONTE: FELICI (2010)**

Parâmetro	Unidade	Lixiviado bruto	Lixiviado tratado por processo biológico	Lixiviado tratado por processo físico-químico
pH <sup>(1)</sup>	-	8,45	9,05	
Alcalinidade	mg CaCO <sub>3</sub> /L	6096,9	2661,1	
Temperatura	°C	23	26,8	
Cor verdadeira	uH	5110	5041	96 - 134
Cor aparente	uH	6023	5624	
Oxigênio dissolvido	mg/L	0,84	0,72	
N-amoniaco	mg/L	1040,5	15	---
NKT <sup>(2)</sup>	mg/L	1135,5	96,7	---
Nitrito	mg/L	1,2	1,4	---
Nitrato	mg/L	4,6	12,3	---
DBO <sup>(3)</sup>	mg/L	159,7	26	
DQO <sup>(4)</sup>	mg/L	2973,7	2264	433 - 599
Sólidos Totais	mg/L	7203	9669	---
Sólidos Voláteis Totais	mg/L	2215	2487	---
Sólidos Fixos Totais	mg/L	4988	7182	---

(1) Potencial hidrogeniônico, (2) Nitrogênio Kjeldahl Total, (3) Demanda Bioquímica de Oxigênio, (4) Demanda Química de Oxigênio.

### Teste de toxicidade utilizando *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia* como organismos-teste

Em relação aos testes de toxicidade com *Artemia salina*, foram realizados testes preliminares em relação a alguns fatores, que necessitam ser considerados. Embora nenhum dos protocolos consultados faça menção sobre os aspectos avaliados, o teste de variação do pH da solução-teste entre 3,0 e 9,0, indicou que o teste deve ser realizado com ajuste de pH para a faixa entre 8,0 e 9,0. O mesmo aconteceu com o teste da variação do fator de diluição, visto que alguma condição de salinidade deve ser mantida para que esse fator não comprometa a interpretação do resultado em relação à toxicidade do composto a ser testado. Este teste indicou



que o teste deve ser realizado mantendo-se pelo menos 20% da solução salina. Já no teste da iluminação, não houve grandes diferenças na utilização ou não da luz no período de exposição à solução-teste.

Os testes de toxicidade com *Artemia salina* foram validados após a contagem dos controles positivos em que todos os indivíduos foram mortos pelo contato com a solução de dicromato de potássio, e dos controles negativos em que havia apenas a solução salina, não ocorrendo mortalidade, indicando dessa forma que a solução salina não continha substâncias tóxicas em concentrações que comprometessem a sobrevivência dos organismos.

De acordo com o cálculo estatístico usando o programa Trimmed Spearman-Kärber, os valores de CL50<sub>24h</sub> frente *Artemia salina* obtidos para os lixiviado bruto, tratado biológico, tratado físico-químico utilizando CF e PAC foram de 18,56%; 39,27%; 16,48% e 7,06% v/v, respectivamente. Já para os testes para *Ceriodaphnia dubia*, os valores de CE50<sub>24h</sub> obtidos para o lixiviado bruto, tratado biológico e tratado físico-químico utilizando CF e PAC foram de 0,39%; 1,30%; 65,63% e 26,57% v/v, respectivamente. Após o período de 48 horas, os valores de CE50<sub>48h</sub> diminuíram como o esperado, obtendo-se valores de 0,24%; 0,89%; 22,48% e 13,84 %v/v. Os resultados de CL50<sub>24h</sub> para *Artemia salina* e de CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> para *Ceriodaphnia dubia* são representados na Figura 4.

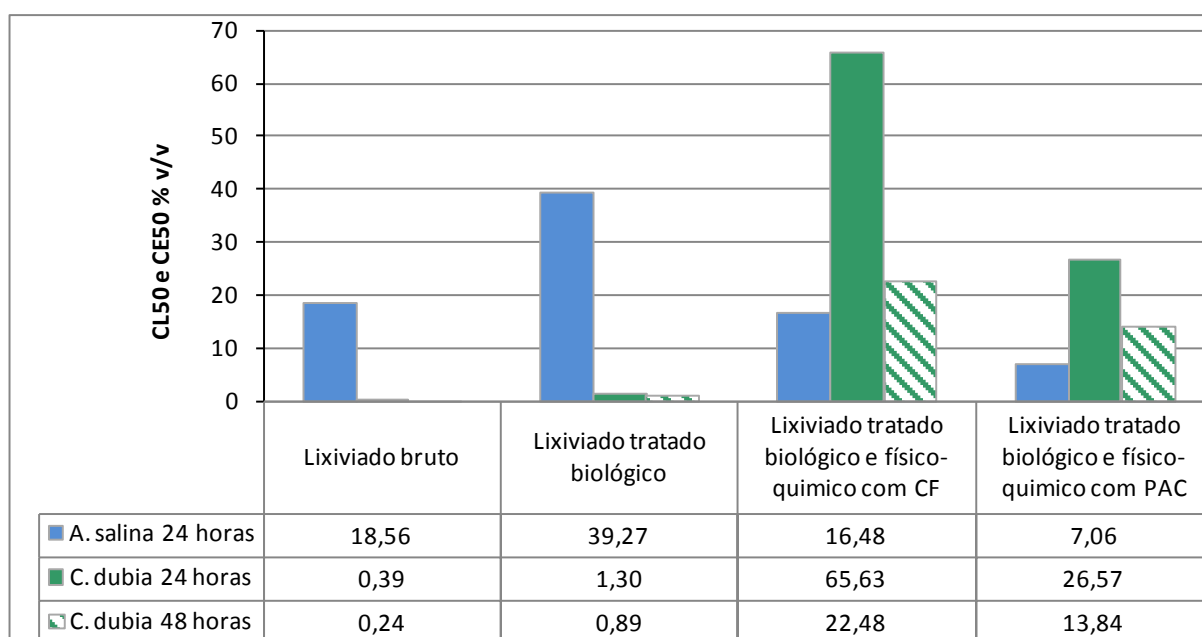


Figura 4: Resultados de CL50<sub>24h</sub> para *Artemia salina* e de CE50<sub>24h</sub> e CE50<sub>48h</sub> para *Ceriodaphnia dubia*

Comparando-se os valores de CL50<sub>24h</sub> para *Artemia salina* e de CE50<sub>24h</sub> para *Ceriodaphnia dubia* pode-se observar que:

- Em relação ao N-amoniaco presente no lixiviado bruto, a *C. dubia* mostrou ser o organismo mais sensível. Já em relação à concentração residual dos metais ferro - Fe e alumínio - Al, após tratamento físico-químico, a *Artemia salina* apresentou maior sensibilidade;
- Em relação aos efluentes tratados por processo físico-químico, a toxicidade do efluente tratado por PAC, foi maior em ambos os organismos testados;
- Para todos os testes de toxicidade, pôde-se observar que o tratamento biológico reduziu a toxicidade do lixiviado bruto, provavelmente devido à remoção de N-amoniaco;
- Considerando a redução de matéria orgânica recalcitrante ao longo dos processos de tratamento, a utilização da *Ceriodaphnia dubia* como organismo-teste apresentou resultados mais satisfatórios.

De acordo com a Resolução do Instituto Ambiental do Paraná – IAP / SEMA/07, em relação aos critérios para avaliação da toxicidade de efluentes líquidos referente a Outras Atividades, não há estipulado nenhum fator de toxicidade - FT, ou seja, a menor diluição da amostra na qual não se observa o efeito deletério sobre os organismos-teste empregados *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia*. No entanto, é citado o FT para os

organismos *Daphnia magna* e a *Vibrio fischeri*, ambos com FT de 12,5%. Para os efluentes: lixiviado bruto, tratado biológico e tratado físico-químico utilizando cloreto férrico - CF e hidróxi-cloreto de polialumínio - PAC os valores de FT para *Artemia salina* foram de 1,0%; 10%; 1,0% e 1,0%, e para *Ceriodaphnia dubia* foram de 0,05%; 0,05%; 5,0% e 5,0%, valores inferiores ao limite estabelecido pela Resolução, podendo-se constatar a toxicidade desses efluentes.

Além disso, a Resolução estabelece limites para o padrão de lançamento de efluentes líquidos em corpos receptores de DBO<sub>5</sub> e DQO de 50mg.L<sup>-1</sup> e 125 mg.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Pela Tabela 2, pode-se observar que mesmo após o tratamento físico-químico em condição otimizada e valores elevados de remoção, o valor de DQO variou de 433 a 599 mg.L<sup>-1</sup>, muito além do permitido pela referida Resolução.

## CONCLUSÕES

- Os testes de toxicidade aguda com os organismos-teste *Artemia salina* e *Ceriodaphnia dubia* indicaram que o lixiviado bruto é tóxico mesmo após tratamento biológico por lodos ativados por processo aeróbio para nitrificação e desnitrificação por via curta, mediante adição de etanol precedido de tratamento preliminar de *air stripping* e tratamento físico-químico utilizando cloreto férrico - CF e hidróxi-cloreto de polialumínio - PAC;
- Para todos os testes de toxicidade realizados, pôde-se observar que o tratamento biológico reduziu a toxicidade do lixiviado bruto, provavelmente devido à remoção de N-amoniacal;
- Em relação aos efluentes tratados por processo físico-químico, a toxicidade do efluente tratado por PAC, foi maior em ambos os organismos testados;
- Considerando a redução de matéria orgânica recalcitrante ao longo dos processos de tratamento, a utilização da *Ceriodaphnia dubia* como organismo-teste apresentou resultados mais satisfatórios em relação à *Artemia salina*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT (2005). **NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 15p.
2. APHA, AWWA, WEF (2005). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF)/21a edição.
3. BRASIL (2005). Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Brasília, 2005.
4. CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. **Rapid Colorimetric Determination of Nitrate in Plant Tissue by Nitration of Salicylic Acid**. Communications in Soil Science and Plant Analysis, v.6, p.71-80, 1975.
5. FELICI, E.M. **Coagulação-floculação-sedimentação como Pós-tratamento de Efluente de Sistema Biológico em Batelada Aplicado a Lixiviado de Aterro de Resíduos Sólidos Urbanos**. Dissertação (Mestrado). Centro de Tecnologia e Urbanismo – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Edificações e Saneamento. Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2010.
6. HAMILTON, M.A.; RUSSO, R.C.; THURSTON, R.V. (1977). **Trimmed Spearman-Kärber Method for Estimating Median Lethal Concentration in Toxicity Bioassays**. Environmental Science & Technology, Easton, v.11, n.7, p.714-719.
7. SEMA, Resolução **Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes Líquidos Industriais**. 2007 IAP – Instituto Ambiental do Paraná.
8. SILVA, A.C. **Tratamento do Percolado de Aterro Sanitário e Avaliação da Toxicidade do Efluente Bruto e Tratado**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2002.
9. SOARES, R. P. **Caracterização Geoquímica dos Solos Lateríticos na Área do Sítio de Disposição Final de Resíduos Sólidos Urbanos de Londrina – PR**. Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Edificações e Saneamento da Universidade Estadual de Londrina, 2006