



021 - TRATAMENTO DE EFLUENTES CONTENDO ANTIBIÓTICOS EM REATORES ANAERÓBIOS: RESPOSTAS ECOTOXICOLÓGICAS DO INVERTEBRADO AQUÁTICO *Chironomus sancticaroli*

Gleyson Borges Castro⁽¹⁾

Engenheiro Sanitarista e Ambiental (UFMT), Mestre e Doutorando em Engenharia Hidráulica e Saneamento (EESC/USP)

Mateus Cottorello Fonsêca⁽²⁾

Engenheiro Químico (FURB), Mestre em Química (UNESP), Doutorando em Ciências da Engenharia Ambiental (EESC/USP)

Marcelo Zaiat⁽³⁾

Doutor em Engenharia Hidráulica e Saneamento, Professor Titular (EESC/USP)

Juliano José Corbi⁽⁴⁾

Doutor em Ecologia e Recursos Naturais (UFSCar), Professor Livre Docente (EESC/USP)

Endereço⁽¹⁾: Laboratório de Ecotoxicologia e Ecologia Aplicada (EESC/USP) – Av. João Dagnone, 1100 – Santa Angelina – São Carlos – São Paulo – 13.563-120 – Brasil – +55 (16) 3373-8358 – e-mail: gleysonborges@usp.br/gleysonbcastro@gmail.com

RESUMO

A ocorrência de antibióticos em matrizes de esgoto e consequente contaminação aquática vem sendo reportada ao longo dos anos, fazendo-se necessário o estabelecimento de tecnologias de tratamento de esgoto para remoção destes compostos em efluentes. Portanto, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o potencial de redução de toxicidade de efluentes tratados em reatores anaeróbios (leito fixo ordenado – RA, e de mistura e biomassa imobilizada – RB), usando como organismo indicador o invertebrado de águas doces *Chironomus sancticaroli*. Os reatores RA e RB foram alimentados com esgoto sintético, contendo 12 antibióticos, sendo 6 sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfametazina, sulfamerazina, sulfadiazina, sulfacetamida, sulfadimetoxina), 5 fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina, perfloxacina, ofloxacina e enrofloxacina) e trimetoprima, cada antibiótico na concentração de 10 µg L⁻¹. Amostras do afluente e efluentes de ambos os reatores operados em 2 fases - tempos de detenção hidráulica (TDH) de 16h e 8h - foram utilizadas nos ensaios de toxicidade. A taxa de mortalidade de *C. sancticaroli* após exposição ao grupo de tratamentos afluente aumentou de acordo com o aumento da proporção da matriz no meio-teste (11 ± 10% no tratamento 10 mL L⁻¹ a 100% no tratamento 1000 mL L⁻¹). Por outro lado, para as exposições aos efluentes dos reatores RA e RB de ambos os TDHs, seja o grupo de tratamento, a taxa de mortalidade média observada foi de, no máximo, 21%. Além disso, a taxa de emergência de *C. sancticaroli* maior que 60% para os grupos de tratamentos afluente. Em contrapartida, altas taxas de emergência foram registradas para tratamentos contendo efluentes dos reatores RA TDH 8h e RB TDHs 16h e 8h (taxa de emergência > 80%). Deste modo, os reatores anaeróbios apresentaram boa capacidade na redução da toxicidade dos efluentes contendo antibióticos para *C. sancticaroli*, causando uma diminuição das taxas de mortalidade bem como um aumento da emergência do invertebrado.

PALAVRAS-CHAVE: sulfonamidas, fluoroquinolonas, desenvolvimento larval, micropoluentes, Chironomidae

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, antibióticos têm se revelado como substâncias de interesse emergente, dado que o consumo global destes fármacos tem refletido diretamente na sua presença no ambiente. Devido ao amplo uso na medicina humana e veterinária, a descarga destas substâncias em águas doces superficiais oportuniza a discussão de um potencial impacto ecotoxicológico, devido à remoção limitada destes compostos emergentes nas estações de tratamento de esgoto convencionais instaladas (STARLING et al., 2019). Alternativas ao tratamento de águas residuárias contendo antibióticos têm sido estudadas, e o tratamento biológico anaeróbio em reatores tem demonstrado diferentes graus de eficiência de remoção destes compostos (OBEROI et al., 2019). Todavia, há uma

carência de estudos que visem os efeitos tóxicos de efluentes contendo antibióticos tratados por diferentes tecnologias para a biota aquática, que pudessem contribuir para assegurar o lançamento das águas tratadas em águas superficiais (VERLICHY et al., 2015).

Sabendo-se que o esgoto doméstico e hospitalar são amostras complexas, podendo ser constituídas por diferentes classes de fármacos, sulfonamidas e fluoroquinolonas já foram selecionadas como prioridade na avaliação de risco ambiental de produtos farmacêuticos, tendo em vista que, mesmo em baixas concentrações, esses grupos de substâncias podem ser significativamente tóxicos à biota (SANTOS et al., 2013). Zhang et al., (2017) sugeriram que antibióticos apresentam maior risco para algas e invertebrados. Neste sentido, invertebrados aquáticos ocupam posição estratégica no ecossistema aquático e são indicados para bioensaios de toxicidade (CHAUMOT, 2004). O invertebrado aquático *Chironomus sancti-caroli* Strixino e Strixino, 1981 é um inseto da ordem Diptera, família Chironomidae. É uma espécie de ocorrência na região neotropical, importante na ciclagem de nutrientes no ambiente aquático e ocupa papel intermediário entre produtores primários e consumidores secundários (PORINCHU e MACDONALD, 2003). Larvas de *C. sancti-caroli* são abundantes em ambientes variados, e alimentam-se de matéria orgânica, algas, bactérias, outros invertebrados e detritos que porventura estejam associados ao sedimento ou suspensos (BEGHELLI et al., 2018).

OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo analisar o potencial de redução de toxicidade de efluentes tratados por duas tecnologias de tratamento biológico: reatores anaeróbios de leito fixo ordenado (RA) e de mistura e biomassa imobilizada (RB), a partir de respostas de mortalidade e emergência de *C. sancti-caroli*.

METODOLOGIA

Os reatores RA e RB foram iniciados com um inóculo, constituído por lodo granular de reator UASB utilizado para o tratamento de águas residuárias de abatedouro de aves localizado em Tietê-SP. Como material suporte dos reatores para fixação da biomassa, foram utilizadas espumas de poliuretano de porosidade 92%. O reator RA foi fabricado em tubo de acrílico flangeado (diâmetro interno de 8 cm, altura do leito reacional de 35 cm e volume útil de 2,70 L). O reator RB foi produzido em tubo de acrílico (15 cm de diâmetro interno, e 15 cm de comprimento e volume útil de 1,10 L). Os reatores RA e RB foram alimentados com esgoto sintético (DQO 550 mg L⁻¹) conforme Martins et al., (2017), contendo 12 antibióticos, sendo 6 sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfametazina, sulfamerazina, sulfadiazina, sulfacetamida, sulfadimetoxina), 5 fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina, perfloxacina, ofloxacina e enrofloxacina) e trimetoprima, cada antibiótico na concentração de 10 µg L⁻¹. Amostras do afluente e efluentes de ambos os reatores operados em 2 fases - tempos de detenção hidráulica (TDH) de 16h e 8h foram utilizadas nos ensaios de toxicidade.

O cultivo de *Chironomus sancti-caroli* foi realizado conforme Corbi et al., (2019). Os ensaios de toxicidade aguda e crônica foram realizados a partir diluições da amostra afluente e amostras efluentes obtidas nas duas fases de cada reator (10; 60; 120; 250; 500 e 1000 mL L⁻¹). A mesma água provida para o cultivo da espécie foi utilizada nas diluições. No ensaio de toxicidade aguda, larvas de IV instar foram expostas às diluições, contendo 240 mL de solução-teste e 60 g de areia fina, em quadruplicata (6 larvas por réplica). As larvas foram alimentadas com 2,5 mg de Tetramin e mantidas por 96h à 25 °C, e fotoperíodo 12h luz: 12h escuro. Ao final do período, o número de larvas sobreviventes foi registrado. Nos ensaios de toxicidade crônica, larvas de I instar foram expostas às diluições, contendo 500 mL de solução-teste e 60 g de areia fina, em quadruplicata (15 larvas por réplica). A alimentação das larvas se deu a cada 5 dias com 5 mg de Tetramin. A cada 10 dias o meio-teste foi trocado, e as larvas transferidas para novas soluções-teste. O ensaio foi realizado sob 25 °C, e fotoperíodo 12h luz: 12h escuro, até a emergência completa das larvas.



RESULTADOS

A taxa de mortalidade de *C. sancticaroli* após exposição ao grupo de tratamentos afluente aumentou de acordo com o aumento da proporção da matriz no meio-teste ($11 \pm 10\%$ no tratamento 10 mL L^{-1} a 100% no tratamento 1000 mL L^{-1}), Figura 1. Para as exposições aos efluentes dos reatores RA e RB de ambos os TDHs, seja o grupo de tratamento, a taxa de mortalidade média observada foi de, no máximo, 21% (efluente RA, TDH 16h, tratamentos de 500 e 1000 mL L^{-1} ; e efluente RB, TDH 8h, tratamento 250 mL L^{-1}). Diferenças significativas na taxa de mortalidade de *C. sancticaroli* foram apontadas entre os grupos de tratamentos 250; 500; 1000 mL L^{-1} e controle (Kruskal-Wallis, $p < 0,005$; $p < 0,05$; $p < 0,05$, respectivamente). Com base no teste de Dunn, diferenças significativas na taxa de mortalidade foram observadas para exposições ao afluente na proporção de 250; 500 e 1000 mL L^{-1} ($p < 0,005$), para exposições ao efluente do reator RB (TDH 8h) na proporção de 250 mL L^{-1} ($p < 0,05$) e para exposições ao efluente do reator RA (TDH 16h) na proporção de 500 mL L^{-1} .

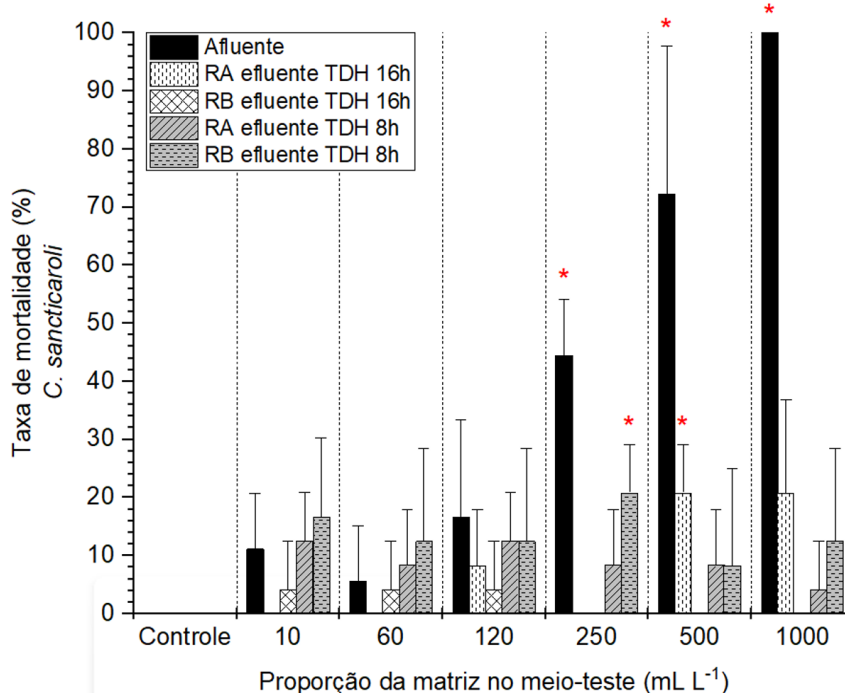


Figura 1: Taxas de mortalidades de *C. sancticaroli* após exposições de curta duração (96h) à afluente e efluentes dos reatores RA e RB em diferentes TDHs. (*) representam diferenças significativas em comparação ao controle.

A taxa de emergência de *C. sancticaroli* alcançou acima de 60% para os grupos de tratamentos afluente (Figura 2). Em contrapartida, altas taxas de emergência foram registradas para tratamentos contendo efluentes dos reatores RA TDH 8h e RB TDHs 16h e 8h (taxa de emergência $> 80\%$). As maiores taxas de emergência foram observadas para tratamentos contendo efluente do reator RA TDH 16h (taxas de emergência entre 91 e 96%). Não foram encontradas diferenças significativas na taxa de emergência entre tratamentos afluente e controle, bem como entre tratamentos RB TDH 8h ou 16h e controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$). No entanto, considerando o TDH 16h, diferenças significativas foram encontradas entre tratamentos e controle para RA e RB (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Com base no teste de Dunn, em RA, estas diferenças foram para todos os grupos de tratamento em comparação ao controle ($p < 0,05$), exceto 10 mL L^{-1} . Em RB, estas diferenças foram apontadas em 10 e 500 mL L^{-1} , em comparação ao controle ($p < 0,05$).

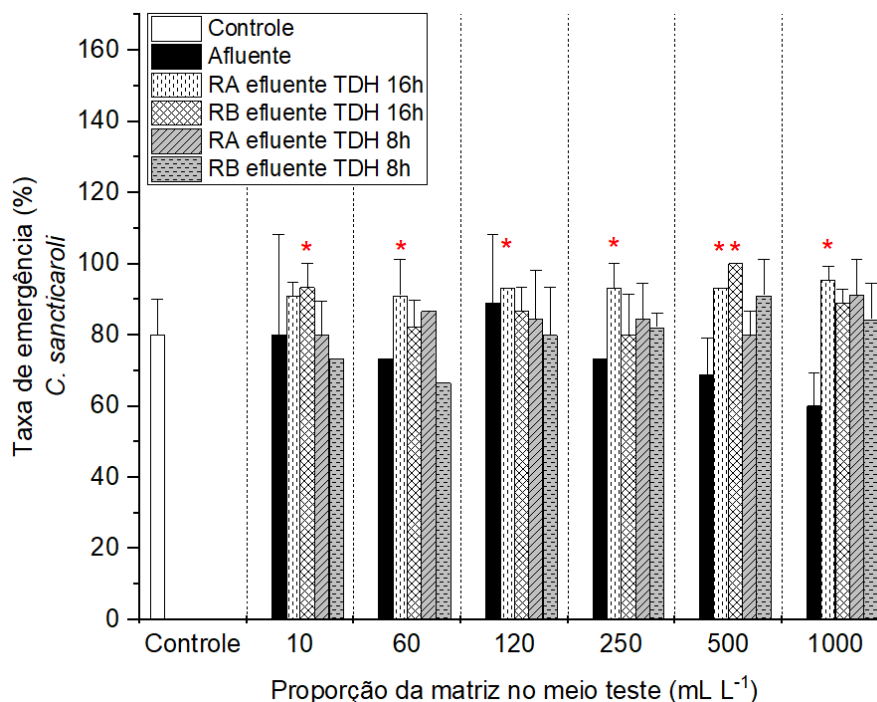


Figura 2: Taxas de emergência de *C. sancticarioli* em exposições de longa duração à afluente e efluentes dos reatores RA e RB em diferentes TDHs. (*) representam diferenças significativas em comparação ao controle.

ANÁLISE E DISCUSSÃO

Considerando a sobrevivência da espécie, ambos os reatores operados em tempos de detenção hidráulica de 16h e 8h foram altamente eficientes na redução da toxicidade dos efluentes, o que resultou em uma queda na taxa de mortalidade de até 80% (sobretudo nos tratamentos brutos – 1000 mL L⁻¹. De maneira similar, em geral, a taxa de emergência de *C. sancticarioli* aumentou após o tratamento pelos reatores RA e RB, acompanhando este efeito positivo na redução da toxicidade para o invertebrado. Um estudo de Carneiro et al., (2021) apontou que o reator anaeróbico de leito fixo tratando efluente contendo sulfametoxazol e ciprofloxacina diminuiu consideravelmente a taxa de mortalidade de *C. sancticarioli* seja em baixas ou altas concentrações de ambos os antibióticos. No presente estudo, verifica-se uma boa performance do reator anaeróbico de leito fixo também na redução da toxicidade de efluentes contendo antibióticos em concentrações tipicamente encontradas em esgotos domésticos e hospitalares, e considerando ainda uma mistura superior de antibióticos.

CONCLUSÃO/RECOMENDAÇÕES

Os reatores anaeróbicos de leito fixo ordenado (RA) e de mistura e biomassa imobilizada (RB) apresentaram boa capacidade na redução da toxicidade dos efluentes contendo antibióticos para *C. sancticarioli*, causando uma diminuição das taxas de mortalidade bem como um aumento da emergência do invertebrado. O monitoramento ecotoxicológico da eficiência de novas tecnologias para remoção de micropoluentes emergentes e outras substâncias comuns em esgoto são particularmente interessantes, uma vez que o lançamento em águas superficiais pode oferecer pressões ecológicas às espécies. *Chironomus sancticarioli* é apresentado como uma espécie sensível a amostras complexas como esgoto, podendo responder a cenários de diluição que podem ocorrer durante o lançamento, e é indicado para o monitoramento da eficiência de tratamento de efluentes. Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) [2020/11042-0; 2020/15087-8; 2022/12048-7]; UE e a Agência Estatal de Pesquisa (AEI)



[PCI2022-121990] no âmbito do consórcio internacional colaborativo PRESAGE financiado no âmbito da Chamada Transnacional Conjunta ERA-NET *AquaticPollutants* [869178].

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEGHELLI, F. G. S. et al. *Lethal and sublethal effects of metal-polluted sediments on Chironomus sanctiparoli Strixino and Strixino, 1981. Ecotoxicology*, v. 27, n. 3, p. 286-299, 2018.
2. CARNEIRO, R. B. et al. *Ecotoxicity and antimicrobial inhibition assessment of effluent from an anaerobic bioreactor applied to the removal of sulfamethoxazole and ciprofloxacin antibiotics from domestic sewage. Water, Air and Soil Pollution*, v. 232 (143), 2021.
3. CHAUMOT, A. et al. *Ecotoxicology, Aquatic Invertebrates*. In: WEXLER, P. *Encyclopedia of Toxicology*, v. 3, 5220 p, 2014. Elsevier.
4. CORBI, J. J. et al. *Chironomus sanctiparoli (Diptera, Chironomidae) as a sensitive test species: can we rely on its use after repeated generations, under laboratory conditions? Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 103, p. 213–217, 2019.
5. MARTINS, G. S. et al. *Removal of sulfamethoxazol and trimethoprim using horizontal-flow anaerobic immobilized bioreactor. Scientia Chromatographica*, v. 9, p. 253-264, 2017.
6. OBEROI, A. S. et al. *Insights into the fate and removal of antibiotics in engineered biological treatment systems: a critical review. Environmental Science & Technology*, 53, p. 7234-7264, 2019.
7. PERRODIN, Y. et al. *A priori assessment of ecotoxicological risks linked to building a hospital. Chemosphere*, v. 90, n. 3, p. 1037-1046, 2013.
8. PORINCHU, D. F.; MACDONALD, G. M. *The use and application of freshwater midges (Chironomidae: Insecta). Progress in Physical Geography*, v. 27, n. 3, p. 378-422, 2003.
9. SANTOS, L. H. M. L. M. et al. *Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: identification of ecologically relevant pharmaceuticals. Science of the Total Environment*, v. 461-462, p. 302-316, 2013.
10. VERLICCHI, P.; AUKIDY, M. A.; ZAMBELLO, E. *What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? - An overview and a discussion on perspectives. Science of The Total Environment*, v. 514, p. 467-491, 2015.
11. ZHANG, M. et al. *The relative risk and its distribution of endocrine disrupting chemicals, pharmaceuticals and personal care products to freshwater organisms in the Bohai Rim, China. Science of the Total Environment*, v. 590-591, p. 633-642, 2017.