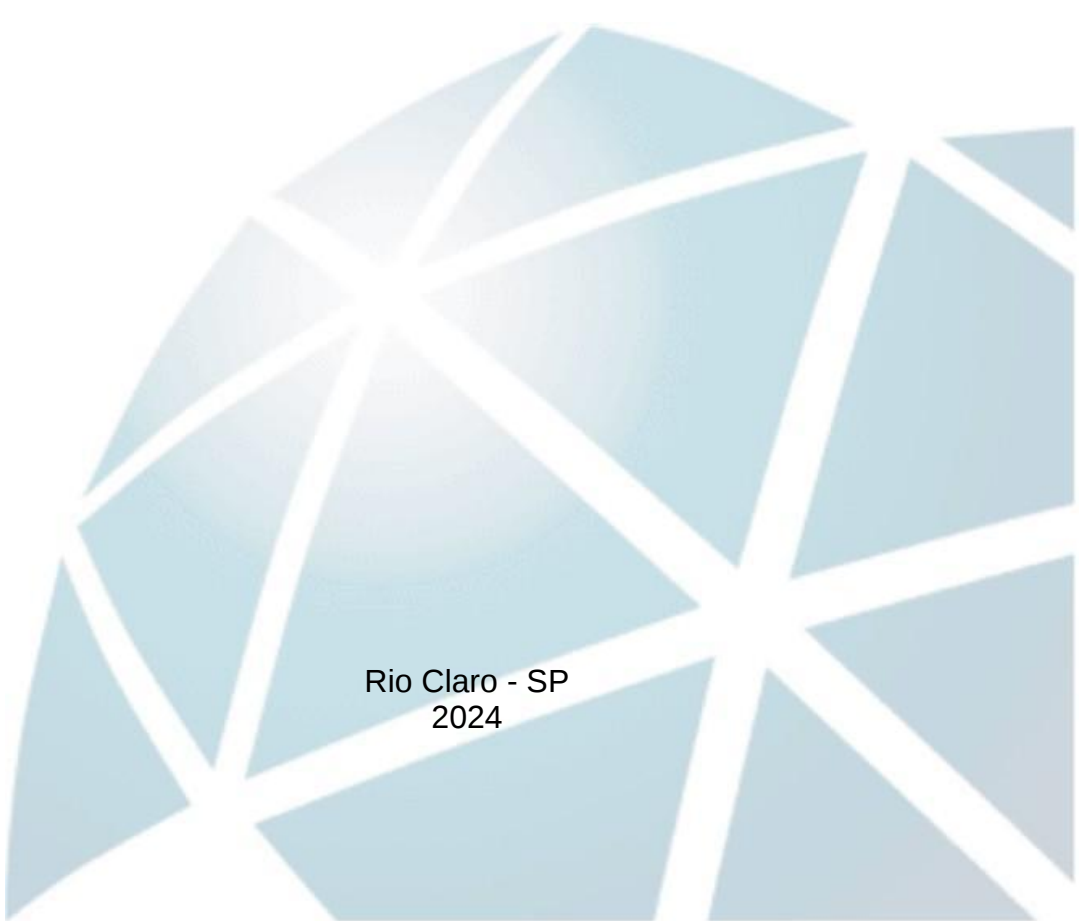

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MONICA MIDORI SUEMITSU

**IMPACTO DO EFLUENTE DE LAVAGEM DE
VEÍCULOS SOBRE MICROBIOTAS AQUÁTICAS
EM COLUNAS DE WINOGRADSKY**



Rio Claro - SP
2024

MONICA MIDORI SUEMITSU

**IMPACTO DO EFLUENTE DE LAVAGEM DE VEÍCULOS SOBRE
MICROBIOTAS AQUATICAS EM COLUNAS DE WINOGRADSKY**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia

Rio Claro - SP
2024

S944i

Suemitsu, Monica Midori

Impacto do efluente de lavagem de veículos sobre
microbiotas aquáticas em colunas de Winogradsky / Monica
Midori Suemitsu. -- Rio Claro, 2024

48 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências
Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto
de Biociências, Rio Claro

Orientador: Ederio Dino Bidoia

1. Efluente. 2. Lava-rápido. 3. Ecotoxicologia. 4. Coluna de
Winogradsky. I. Título.

MONICA MIDORI SUEMITSU

**IMPACTO DO EFLUENTE DE LAVAGEM DE VEÍCULOS SOBRE
MICROBIOTAS AQUÁTICAS EM COLUNAS DE WINOGRADSKY**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências – Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Bacharela em Ciências Biológicas.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia (orientador)

Prof. Dr. Ben-Hur Mattiuz

Dr. Pedro Henrique Mainardi

Aprovado em: 11 de novembro de 2024

Assinatura da discente

Assinatura do orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família e amigos em Embu Guaçu por todo o incentivo e apoio durante todos os anos de graduação.

Agradeço aos colegas que dividiram meus primeiros anos de graduação na Moradia Estudantil da Unesp RC, e à turma CBI 017. A esses, em especial à Debora, Evelyn, Lilian, Andreza, Amanda, Lívia, Mirelle, Maíra e Matheus, meus agradecimentos por todos os momentos que passamos juntos.

Agradeço aos meus orientadores ao longo da graduação, Márcio P. Bolfarini, José Paulo L. Guadanucci, Leonor Patrícia C. Morellato, José Silvio Golvone e Ederio D. Bidoia, por toda a paciência, incentivo e experiência que me passaram durante a elaboração de projetos de iniciações científicas, estágio e TCC. Agradeço também aos técnicos do Departamento de Biologia Geral e Aplicada, Adriano Uemura de Faria e Lídia Renata Zanão, pelo treinamento disponibilização de aparelhos durante a prática deste trabalho. Agradeço aos servidores da Biblioteca e da Seção Técnica de Graduação pela ótima recepção e apoio prestado, em especial ao Elton F. de Paula, pela atenção em relação à bolsa VUNESP nos meus primeiros quatro anos de graduação.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma maneira, contribuíram para a minha formação.

RESUMO

Com o aumento da frota nacional de veículos, negócios que oferecem serviços de manutenção de automóveis, como os de lava-rápidos, vem crescendo significativamente. Um importante resíduo gerado por este tipo de serviço é o efluente de lavagem, que possui em sua composição uma mistura de água com óleos, graxas, resíduos derivados do petróleo, sólidos em suspensão, matéria orgânica, surfactantes, sais e metais pesados, que quando não tratados podem gerar efeitos deletérios no local de descarte. Neste sentido, este trabalho visou avaliar o impacto do efluente residual de estabelecimentos de lavagem de veículos sobre um ecossistema aquático simulado por meio de colunas de Winogradsky. Foram acompanhadas medidas físico-químicas e microbiológicas, e realizados testes de fitotoxicidade com sementes de alface (*Lactuca sativa*) e rúcula (*Eruca sativa*). Os efluentes residuais não ocasionaram diferenças de condutividade elétrica e contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) quando comparadas ao controle, porém observou-se alterações em relação ao pH e composição da microbiota nas colunas. As colunas que continham efluentes apresentaram desenvolvimento mais lento e menos acentuado de algas e cianobactérias em comparação com o controle, além de um pH mais ácido. Em relação aos testes de fitotoxicidade, nos tratamentos com efluentes residuais, observou-se crescimento de radículas significativamente menor para as sementes de alface e significativamente maior para as sementes de rúcula. Os resultados obtidos destacam a importância de pesquisas sobre este tema para embasar a implementação e o desenvolvimento de métodos para o tratamento de efluentes de lavagem de carros.

Palavras-chave: Efluente; Lava-rápido; Ecotoxicologia; Coluna de Winogradsky.

ABSTRACT

The increase in the national vehicle fleet has led businesses offering automobile maintenance services, such as carwashes, to expand to meet the growing demand. An important waste generated by this type of service is the washing effluent, which contains a mixture of water with oils, greases, petroleum-derived residues, suspended solids, organic matter, surfactants, salts, and heavy metals. If untreated, this effluent can cause harmful effects at the disposal site. In this context, this work aimed to assess the impact of the residual effluent from car wash establishments on a simulated aquatic ecosystem using Winogradsky columns. Physicochemical and microbiological measurements were monitored, and phytotoxicity tests were conducted using lettuce (*Lactuca sativa*) and arugula (*Eruca sativa*) seeds. The residual effluents did not cause differences in electrical conductivity or Colony-Forming Units (CFUs) count when compared to the control, but changes were observed in pH and microbiota composition in the columns. The columns that contained effluents showed slower and less pronounced development of algae and cyanobacteria compared to the control, as well as a more acidic pH. Regarding the phytotoxicity tests, in the treatments with residual effluents, significantly smaller root growth was observed in lettuce seeds, while significantly larger root growth was observed in arugula seeds. The results obtained highlight the importance of research on this topic to support the implementation and development of methods for carwash effluent treatment.

Keywords: Wastewater; Carwash; Ecotoxicology; Winograsky column.

Title in english: Impact of vehicle washing effluent on aquatic microbiota in Winogradsky columns.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gradiente de distribuição de microrganismos e concentração de O ₂ e H ₂ S.	12
Figura 2 - Reagentes utilizados para auxiliar nas necessidades nutricionais nas Colunas de Winogradsky.	16
Figura 3 - Sementes de alface (<i>Lactuca sativa</i>) da marca IslaPark.....	19
Figura 4 - Sementes de rúcula (<i>Eruca sativa</i>) da marca Topseed.....	19
Figura 5 - Colunas de Winogradsky logo após a montagem.	22
Figura 6 - Colunas de Winogradsky 12 horas após a montagem.	23
Figura 7 - Colunas de Winogradsky na 2 ^a semana do experimento.	24
Figura 8 - Colunas de Winogradsky na 3 ^a semana do experimento.	25
Figura 9 - Colunas de Winogradsky na 4 ^a semana do experimento.	26
Figura 10 - Colunas de Winogradsky na 5 ^a semana do experimento.	26
Figura 11 - Colunas de Winogradsky na 6 ^a semana do experimento.	27
Figura 12 - Colunas de Winogradsky na 7 ^a semana do experimento.	27
Figura 13 - Colunas de Winogradsky na 8 ^a semana do experimento.	28
Figura 14 - Colunas de Winogradsky na semana final do experimento.....	28
Figura 15 - Variação da condutividade elétrica nos tratamentos ao longo das semanas.	30
Figura 16 - Variação do pH nos tratamentos ao longo das semanas.	32
Figura 17 - UFCs registradas por tratamento ao longo do experimento.....	34
Figura 18 - Sementes de rúcula (<i>Eruca sativa</i>) após 5 dias de incubação a 21°C em meio contendo solução de Sulfato de Zinco 0,05mol/L.	36
Figura 19 - IG (%) e Classificação de fitotoxicidade de Bello (2011) das sementes de <i>Lactuca sativa</i> ao longo do tempo (dias).....	37
Figura 20 - IG (%) e Classificação de fitotoxicidade de Bello (2011) das sementes de rúcula (<i>Eruca sativa</i>) ao longo do tempo (dias).	38
Figura 21 - Dispersão do crescimento radicular registrado para as sementes de <i>Lactuca sativa</i> nos três tratamentos (A, B e C) e controle (água deionizada).	40
Figura 22 - Dispersão do crescimento radicular registrado para as sementes de <i>Eruca sativa</i> nos três tratamentos (A, B e C) e controle (água deionizada).	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação de Bello (2011) para o IG (%).....	20
Tabela 2 - Condutividade elétrica mensurada nos tratamentos ao longo das semanas.	29
Tabela 3 - Diferença de condutividade elétrica (mS/cm) entre tratamentos ao longo das semanas.....	29
Tabela 4 - Valores de pH mensurados nos tratamentos ao longo das semanas.....	31
Tabela 5 - UFCs/mL registradas por tratamento ao longo do experimento.	33
Tabela 6 - Resultados do teste One way ANOVA entre os tratamentos C, A e B.....	34
Tabela 7 - Índice de Germinação (%) de Eruca sativa ao longo do tempo (dias).	35
Tabela 8 - Índice de Germinação (%) de Lactuca sativa ao longo do tempo (dias). .	36
Tabela 9 - Resultados do teste One way ANOVA entre os tratamentos referente às médias de crescimento radicular em Lactuca sativa.	39
Tabela 10 - Resultados do teste de Tukey para verificar a significância das médias entre tratamentos e controle (água) em Lactuca sativa.	39
Tabela 11 - Resultados do teste ANOVA entre os tratamentos referente às médias de crescimento radicular em Eruca sativa.....	40
Tabela 12 - Resultados do teste de Tukey para verificar a significância das médias entre tratamentos e controle (água) em Eruca sativa.....	40
Tabela 13 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em Lactuca sativa.	42
Tabela 14 - Resultados do teste de Qui-quadrado para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em Lactuca sativa.	43
Tabela 15 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em Eruca sativa.	43
Tabela 16 - Resultados do teste de Qui-quadrado para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em Eruca sativa.	43

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
BRS	Bactéria Redutora de Sulfato
A1, A2 e A3	Colunas de Winogradsky com efluente do Lava-rápido A
B1, B2 e B3	Colunas de Winogradsky com efluente do Lava-rápido B
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CRT	<i>Conditionally Rare Taxa</i> (táxons condicionalmente raros)
C1, C2 e C3	Colunas de Winogradsky com água do lago paisagístico do IB
DPM	Desvio padrão da média
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
DQO	Demanda Química de Oxigênio
IB	Instituto de Biociências
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IG	Índice de Germinação
GL	Graus de Liberdade
LIC	Limite Inferior de Controle
LSC	Limite Superior de Controle
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
OD	Oxigênio Dissolvido
QM	Quadrado médio
SQ	Soma dos quadrados
%GR	Germinação Relativa (%)
%CRR	Crescimento Radicular Relativo (%)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivos específicos	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1. Local de Estudo	15
3.2. Coleta das amostras do efluente residual	15
3.3. Montagem das colunas de Winogradsky	15
3.4. Índices físico-químicos e microbiológicos	17
3.4.1. Condutividade e pH	17
3.4.2. Unidades Formadoras de Colônia (UFCs)	17
3.4.3. Diluição seriada das amostras	17
3.4.4. Inoculação em profundidade e contagem de UFC	18
3.5. Ensaio de fitotoxicidade	19
3.6. Análise de dados	21
3.7. Tratamento e descarte de resíduos da pesquisa	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Aspecto geral das colunas de Winogradsky	22
4.2. Condutividade elétrica	28
4.3. pH	31
4.4. Unidades Formadoras de Colônias (UFCs)	33
4.5. Fitotoxicidade	35
4.5.1. Índice de Germinação de sementes ao longo do tempo	37
4.5.2. Comparação da fitotoxicidade entre tratamentos	39
5. CONCLUSÕES	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. INTRODUÇÃO

Conforme dados do Censo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE no ano de 2022, o Brasil possui uma frota de 115.116.532 veículos, destes, 60.459.290 correspondem a automóveis, presentes em 49,8% dos domicílios brasileiros (IBGE, 2022). Com o aumento da frota nacional de veículos, a demanda por serviços de manutenção dos automóveis vem acompanhando este crescimento.

Dentre estes, os serviços de lavagem de veículos - os lava-rápidos ou lava jatos, vêm sendo considerados um modelo de negócio promissor no país (SEBRAE, 2012). Os lava-rápidos podem ser divididos em duas categorias: lavagem manual ou automatizada, que variam quanto a quantidade de água, substâncias e equipamentos utilizados. Teixeira (2003) caracteriza dois tipos de lavagem automatizada: do tipo *Rollover*, equipamento que se movimenta ao redor do veículo com escovas que giram em torno do seu próprio eixo, e do tipo Túnel, em que o automóvel passa por áreas do equipamento que realizam a lavagem, enxágue, enceramento e secagem. No Brasil o tipo mais comum é a lavagem manual, nesta o profissional se utiliza de equipamento a jato de alta pressão de ar, água e sabões para a limpeza. Os três tipos de lavagem utilizam grande quantidade de água: o volume varia de 45 e 200L por veículo (Sarmadi *et al.*, 2020).

Ao ser utilizada para a lavagem, a água se torna um efluente composto por óleos, graxas, resíduos de derivados do petróleo, sólidos em suspensão, matéria orgânica, surfactantes, sais e metais pesados (e.g., cromo, níquel, chumbo), provenientes do motor, chassis, sistema de freios, pintura e do próprio processo de lavagem (Sarmadi *et al.*, 2020; Teixeira, 2003).

Devido aos conhecidos efeitos deletérios a ecossistemas aquáticos e terrestres do petróleo e seus derivados, toda a cadeia de transformação e serviços da indústria automotiva é rigorosamente regulamentada (SEBRAE, 2012). No entanto, não há regulamentação específica para o lançamento de efluentes provenientes de lava-rápidos de âmbito federal ou estadual, no caso do estado de São Paulo.

Para o licenciamento da atividade, os órgãos reguladores aplicam a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº273/2000 que dispõe sobre o licenciamento ambiental de postos de gasolina. Devido ao potencial poluidor de corpos d'água superficiais e subterrâneos, do solo e do ar, esses serviços possuem licenciamento ambiental obrigatório (Brasil, 2000). Outra legislação relevante para a

atividade é a Resolução CONAMA nº357/2005, alterada pela Resolução nº430/2011, que estabelece em seu Artigo 34º, as condições e padrões para o lançamento de efluentes, observando aspectos como pH, temperatura, materiais sedimentáveis, óleos e graxas, parâmetros orgânicos (e.g., dicloroetano, fenóis, clorofórmio) e inorgânicos (e.g., arsênio, chumbo, ferro dissolvido, cianeto, cromo) (Brasil, 2005).

Exigências técnicas mais específicas podem ser regulamentadas pelo órgão licenciador, que na maioria dos casos são os municípios. Uma das exigências é o tratamento do efluente antes do lançamento na rede coletora de esgoto por meio da separação do óleo através de caixa separadora de água e óleo. Na cidade do Rio de Janeiro - RJ, por exemplo, esta exigência é regulamentada por meio da Lei nº2.482/1996 que dispõe sobre a obrigatoriedade de construção de caixas retentoras para postos de serviços de lavagem, lubrificação e abastecimento de veículos (Rio de Janeiro, 1996).

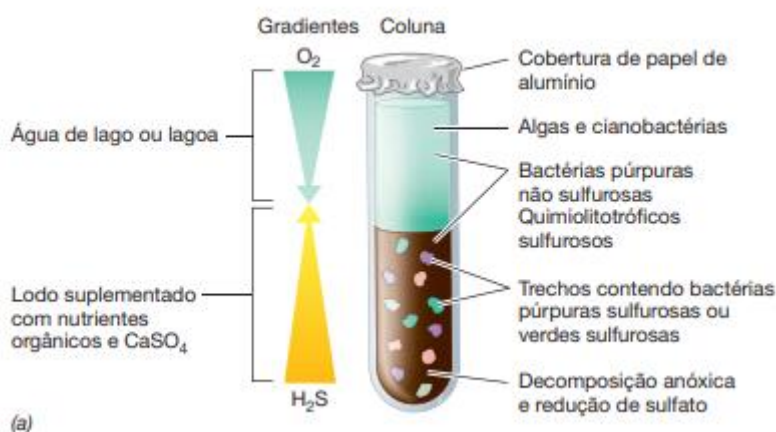
Estabelecimentos com este dispositivo possuem um sistema com três etapas (Bohn, 2014). A primeira etapa é a coleta do efluente bruto, que escoar por meio de canaletas para a caixa de areia, onde ocorre um sistema trifásico: sólidos grosseiros sedimentáveis ao fundo, água na camada intermediária e óleos na superfície. A separação por diferença de densidade auxilia na drenagem da água e óleo para a segunda etapa, que é a caixa separadora de óleo. O óleo novamente se acumula na camada superficial, onde há um duto de saída para uma caixa que realiza a coleta do óleo. O efluente resultante é encaminhado para a última etapa, uma repetição do processo de separação do óleo para melhorar a eficiência, e destina o efluente final à rede coletora de esgoto. O óleo separado na caixa separadora e os materiais sedimentáveis devem ser periodicamente destinados a um local licenciado para o tratamento final dos resíduos.

Quando os estabelecimentos funcionam de forma irregular ou na ausência de fiscalização efetiva do poder público sobre os serviços de lavagem de automóveis, os dispositivos de pré-tratamento podem ser inexistentes e o lançamento dos efluentes pode ocorrer diretamente na rede coletora de águas pluviais ou rede de esgoto comum, o que por sua vez, gera efeitos nocivos às Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) ou corpos hídricos (Sarmadi et al., 2020; Stumpf, 2016), visto que a qualidade do efluente bruto resultante da lavagem é muito abaixo dos padrões recomendados, dada a sua composição.

Como efeitos nocivos, pode-se citar a ação de surfactantes contidos no efluente, que possuem fosfatos, nitrogênio, sódio, cloro e boro em sua composição, elementos que induzem o crescimento excessivo de algas em corpos d'água e galerias de drenagem (Sarmadi et al., 2020), além de causarem a formação de emulsões estáveis de difícil remoção nos sistemas de tratamento e facilitarem o transporte de microrganismos devido às espumas geradas (Teixeira et al., 2003). Outro efeito negativo do efluente é a contaminação por óleo: a formação de um filme insolúvel na superfície da água pode culminar em perdas na aeração e iluminação natural de corpos hídricos (Stumpf, 2016).

Neste contexto, compreender os efeitos do efluente residual de lavagem de veículos nos ecossistemas aquáticos é essencial para sua preservação. Para estudar o impacto desses contaminantes nos ecossistemas aquáticos, uma técnica eficaz é a Coluna de Winogradsky. Nesta técnica, uma coluna de material transparente é preenchida por amostras de solo e água do ambiente estudado e colocado em local com acesso a luz artificial ou natural, as camadas de solo, água e ar simulam as condições de um corpo hídrico raso (Abbasian et al., 2015), sendo formada ao longo do tempo, uma estratificação de microrganismos conforme o gradiente de concentração de oxigênio (O_2) e sulfeto (H_2S), luz e nutrientes (Figura 1).

Figura 1 - Gradiente de distribuição de microrganismos e concentração de O_2 e H_2S .



Fonte: Madigan et al. (2016, p.571).

Uma vez preparadas, as colunas funcionam como ecossistemas autossustentáveis fechados, dependentes apenas da entrada de luz externa, o que permite a realização de estudos de curto e longo prazo (Esteban; Hysa; Bartow-

McKenney, 2015). Desta forma, podem ser realizados o acompanhamento do desenvolvimento das comunidades de microrganismos e monitoramento de parâmetros de qualidade da água como o pH, Oxigênio Dissolvido (OD), Demanda Química de Oxigênio (DQO), Clorofila a e condutividade elétrica.

Outro método empregado para verificação da qualidade ambiental são os testes de fitotoxicidade em sementes. Os testes auxiliam na investigação da contaminação ambiental ao demonstrar o efeito de substâncias químicas nos organismos, ao mesmo tempo que possuem a vantagem de apresentar efetividade, simplicidade e baixo custo de execução (Peduto; Jesus; Kohatsu, 2019). Os bioensaios partem do princípio de que nos primeiros dias de desenvolvimento, ocorrem na plântula, diversos processos fisiológicos que são afetados pela presença de toxinas (Peduto; Jesus; Kohatsu, 2019). Avaliar os efeitos de toxinas sobre o crescimento das plantas, portanto, indica a capacidade da plântula de se estabelecer e se desenvolver no meio.

Sendo assim, considerando que o potencial impacto ambiental gerado por efluentes de lavagem de veículos em ecossistemas aquáticos, e que técnicas como a Coluna de Winogradsky e os testes de fitotoxicidade em sementes oferecem abordagens eficazes para analisar a contaminação e seus efeitos em organismos, este estudo visa fornecer subsídios para o desenvolvimento de soluções que minimizem os impactos dessa atividade.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar o impacto do efluente da lavagem de automóveis em ecossistema aquático simulado por meio de colunas de Winogradsky, monitorando alterações na microbiota e nas condições físico-químicas, além de analisar a fitotoxicidade desse efluente.

2.2. Objetivos específicos

- I. Montar colunas de Winogradsky com efluentes coletados em lavarápidos da cidade de Rio Claro;
- II. Analisar as variações físico-químicas nas colunas de Winogradsky através do monitoramento do pH e condutividade elétrica;
- III. Acompanhar a variação quantitativa na biota microbiana das colunas através da contagem das Unidades Formadoras de Colonias (UFCs);
- IV. Realizar ensaios de fitotoxicidade do efluente de lavagem de automóveis sobre sementes das espécies-modelo *Lactuca sativa* (alface) e *Eruca sativa* (rúcula), buscando compreender:
 - a. Se ocorrem diferenças em relação à germinação de sementes ao longo do tempo, utilizando como método de comparação a classificação proposta por Bello (2011);
 - b. Se há diferença significativa entre ensaios com efluente e ensaios com controle (água) em relação às variáveis crescimento da radícula e germinação de sementes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de Estudo

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Multidisciplinar de Pesquisas do Meio Ambiente, localizado no Departamento de Biologia Geral e Aplicada, da Universidade Estadual Paulista (Unesp) - Câmpus de Rio Claro.

3.2. Coleta das amostras do efluente

A coleta das amostras de efluente da lavagem de automóveis ocorreu em dois lava-rápidos localizados no bairro Bela Vista, cidade de Rio Claro - SP. Neste trabalho, os estabelecimentos foram identificados como “Lava-rápido A” e “Lava-rápido B”.

Ambos os estabelecimentos possuíam caixa separadora de água e óleo e realizavam a destinação de resíduos para um local licenciado. O Lava-rápido A realizava a limpeza da areia da caixa separadora diariamente, enquanto o Lava-rápido B não possuía uma periodicidade definida, e realizava a limpeza conforme a demanda. Em consulta prévia, os responsáveis pelos locais informaram que a demanda de lavagem variava de acordo com a época do ano e a ocorrência de chuvas durante a semana, quando havia tendencia de aumento na demanda de serviço.

Durante a época da coleta do efluente, mês de abril do ano de 2024 (estação chuvosa), o Lava-rápido A possuía uma demanda de lavagem estimada entre 30 e 60 carros por semana, e o Lava-rápido B estimou uma média 15 carros por semana.

No dia de coleta, o efluente do Lava-rápido A não apresentava cheiro forte, possuía cor cinza-esverdeada, e não era possível observar óleo ou a formação de espuma na superfície. Houve a formação de espuma, entretanto, quando o efluente foi agitado. O efluente do Lava-rápido B, por sua vez, possuía forte odor semelhante ao de esgoto, apresentava óleo e espuma visível na superfície, e quando agitado o efluente espumava com facilidade.

3.3. Montagem das colunas de Winogradsky

As colunas de Winogradsky foram montadas em triplicatas para o controle, efluente do Lava-rápido A e efluente do Lava-rápido B, totalizando nove colunas.

Para montagem das colunas, foram utilizadas garrafas plásticas transparentes com capacidade de 1,5 L, previamente higienizadas, cortadas e secas. Em cada coluna foi adicionado 100 g de solo coletado próximo ao Departamento de Biologia Geral e Aplicada, além de nutrientes para auxiliar as necessidades nutricionais da microbiota aquática: 4,5 g de sulfato de sódio (Na_2SO_4), 0,2 g de carbonato de sódio (Na_2CO_3), 0,2g fosfato dipotássico (K_2HPO_4), 0,5 g de sulfato e amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) e 0,5 g de celulose (Figura 2).

Figura 2 - Reagentes utilizados para auxiliar nas necessidades nutricionais nas Colunas de Winogradsky.

Da esquerda para a direita: Fosfato de potássio anidro Synth, Sulfato de Sódio anidro Synth, Carbonato de sódio anidro Synth, Sulfato de amônio Reagen, Celulose Microcristalina Synth.



Fonte: Autora, 2024.

A fase líquida da coluna foi constituída por 1000 mL do efluente do Lava-rápido A para os tratamentos denominados “A1”, “A2” e “A3”, 1000 mL do efluente do Lava-rápido B para os tratamentos denominados “B1”, “B2” e “B3”, e 1000 mL de água do lago paisagístico do Instituto de Biociências (IB) da Unesp Rio Claro nos tratamentos controle denominados “C1”, “C2” e “C3”. O lago do IB possui rica composição de pequenos vertebrados e presença de vegetação, além de sofrer pouca interferência externa, condições que simulam um lago natural. A água coletada do lago não apresentava algum odor característico e possuía leve coloração esverdeada. Para garantir a retirada de pequenas plantas aquáticas, solo e invertebrados, a água foi filtrada com algodão antes de sua utilização.

Após a montagem, a superfície das colunas foi coberta com tela para evitar o acesso de insetos e acomodadas no peitoril interno da janela do Laboratório

Multidisciplinar de Pesquisas do Meio Ambiente. Com orientação 14° Norte, o local possui acesso à luz natural e recebe luz solar direta durante o período da manhã.

Devido a taxa natural de evaporação e a coleta de amostras para execução de testes de fitotoxicidade e plaqueamento, assim que montadas, as colunas receberam marcações no nível da água. As marcações foram utilizadas como referência para reposição da fase líquida a cada quinze dias, utilizando os efluentes e água do lago paisagístico já coletados.

O experimento foi conduzido durante 60 dias.

3.4. Índices físico-químicos e microbiológicos

O acompanhamento das medidas físico-químicas e microbiológicas foram realizadas conforme diretrizes presentes na 20ª edição do livro “*Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*” (APHA, 1998) e Normas Técnicas vigentes da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB).

3.4.1. Condutividade e pH

As medidas de pH e condutividade elétrica nas colunas de Winogradsky foram mensuradas semanalmente com o auxílio de um pHmetro *Digimed DM-22* e condutímetro *Marte MB-11* previamente calibrados.

3.4.2. Unidades Formadoras de Colônia (UFCs)

Estimar o número de bactérias heterotróficas presentes na água pode fornecer uma indicação geral sobre sua qualidade, além de auxiliar na mensuração das mudanças que ocorrem durante seu tratamento e distribuição (CETESB, 2006; APHA, 1998). Para este estudo a contagem de UFCs fornecerá uma comparação quantitativa da composição microbiológica entre amostras e ao longo do tempo.

A contagem das Unidades Formadoras de Colônia foi realizada através do método CETESB (2006), de acordo com as seguintes etapas:

3.4.2.1. Diluição seriada das amostras

Antes do plaqueamento, as amostras foram submetidas a diluições seriadas para a obtenção de um número apropriado de colônias para a contagem manual.

Utilizou-se como diluente uma solução cloreto de sódio (NaCl) de concentração 0,9%. Esta solução salina foi preparada em um b quer de 600 mL, diluindo-se 4,5 g de NaCl em 500 mL de água deionizada, agitada com o auxílio de um bastão de vidro. O sal foi pesado utilizando-se uma balança analítica e a água foi medida por meio de um balão volumétrico de 500 mL. Com o auxílio de uma pipeta de vidro de 10 mL, preparou-se 45 tubos de ensaio com 9 mL de solução salina. Após a inserção da solução salina, os tubos foram fechados com tampão de algodão e levados à autoclave para esterilização.

Para preparar as diluições seriadas, adicionou-se 1,0 mL da amostra coletada nas colunas a 9,0 mL de diluente (solução salina) em um tubo de ensaio, utilizando uma micropipeta devidamente calibrada. Após a adição, a mistura foi agitada para garantir a incorporação do efluente. Em seguida, transferiu-se 1,0 mL da primeira diluição (10^{-1}) para outro tubo de ensaio contendo 9,0 mL de diluente, obtendo-se a diluição 10^{-2} . Esse procedimento foi repetido sucessivamente até a obtenção cinco diluições seriadas para cada efluente.

3.4.2.2. *Inoculação em profundidade e contagem de UFCs*

O preparo das placas de contagem de UFCs foi realizado a cada trinta dias, no início, meio e fim do experimento. O procedimento foi aplicado para as diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} em duplicada, totalizando seis placas para cada coluna.

Empregou-se a metodologia *Pour plate* (inoculação em profundidade), descrita por APHA (1998) e pela norma técnica CETESB L5.201 (2006). A técnica baseou-se na inoculação de 1,0 mL de amostra em placas de Petri estéreis, seguida da adição do meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) fundido e agitação suave em círculos para mistura do inóculo ao meio. Logo após a solidificação do ágar, as placas foram vedadas com plástico filme e incubadas em estufa em posição invertida, onde permaneceram durante 48 horas a 28 C.

Decorrido o período de incubação, as col nias formadas foram quantificadas com o auxílio de um contador manual. Para assegurar a confiabilidade da contagem de UFCs e sua significância estatística, foram contadas as col nias apenas em placas de Petri contendo entre 30 e 300 col nias (Madigan *et al*, 2016). A Equação 1 foi utilizada para o cálculo do número de UFC/mL.

$$UFC/mL = Média\ aritmética\ da\ contagem\ nas\ duplicatas \times inverso\ do\ volume\ de\ diluição\ (mL)$$

(1)

3.5.Ensaio de fitotoxicidade

Os ensaios para avaliação da fitotoxicidade do efluente feitas utilizando sementes de alface (*L. sativa*) da marca Isla Park, lote 160511-004 (Figura 3), e de rúcula (*E. sativa*) da marca Topseed, lote 095522 (Figura 4). Segundo os fabricantes, ambas as sementes utilizadas eram livres de defensivos agrícolas e transgênicos, e possuíam desempenho germinativo de 98% e 90%, respectivamente.

Figura 3 - Sementes de alface (*L. sativa*) da marca IslaPark.



Fonte: Autora, 2024.

Figura 4 - Sementes de rúcula (*E. sativa*) da marca Topseed.



Fonte: Autora, 2024.

As sementes foram germinadas em placas de Petri contendo papel de filtro embebido em 3,0 mL do efluente de cada coluna. Em cada placa, foram alocadas 20 sementes. O experimento foi realizado em duplicata para cada efluente. Como controle positivo, utilizou-se uma solução de sulfato de zinco 0,05 mol/L, e como controle negativo, água deionizada. No total, foram utilizadas 44 placas de Petri previamente lavadas, secas e esterilizadas sob luz ultravioleta por 15 minutos.

As placas foram vedadas com plástico filme para evitar contaminação externa e perda de umidade, e cobertas com papel alumínio para bloquear a entrada de luz e estimular sua germinação. Após a montagem, as sementes foram mantidas em câmara de germinação a 21°C pelo período de cinco dias.

Decorrido o período do experimento, foi feita a mensuração do crescimento radicular e contagem de sementes germinadas em cada amostra. Com os dados obtidos, foram calculadas as taxas de Germinação Relativa (%GR) e Crescimento Radicular Relativo (%CRR) para obtenção do Índice de Germinação (IG), conforme as Equações 2, 3 e 4, adaptadas de Peduto; Jesus e Kohatsu (2019).

$$\text{Germinação relativa} = \frac{\text{Número de sementes germinadas na amostra}}{\text{Número de sementes germinadas no controle}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Crescimento Radicular Relativo} = \frac{\text{Crescimento médio na amostra}}{\text{Crescimento médio no controle}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{Índice de germinação} = \frac{\text{Germinação relativa} \times \text{Crescimento Radicular Relativo}}{100} \quad (4)$$

Para comparar as medidas de IG obtidas, utilizou-se a classificação de fitotoxicidade proposta por Bello (2011), também utilizada por Peduto; Jesus e Kohatsu (2019), apresentada na Tabela 1 abaixo.

Tabela 1 - Classificação de Bello (2011) para o IG (%).

Índice de germinação	Classificação
< 30	Muito fitotóxico
30 – 60	Fitotóxico
60 – 80	Moderadamente fitotóxico
80 – 100	Não fitotóxico
> 100	Potencializa a germinação

Fonte: Adaptado de Bello (2011)

3.6. Análise de dados

Os dados físico-químicos e microbiológicos obtidos durante o acompanhamento das Colunas de Winogradsky foram tabelados por meio do software Microsoft Excel (v.2410). Posteriormente, os dados foram analisados e compilados visualmente em gráficos e tabelas por meio do software Origin (Trial version v. 2024b).

Para verificar se ocorreram diferenças significativas entre tratamentos nos testes de germinação e na contagem de UFCs, utilizou-se os testes de comparação de médias *One Way ANOVA* e Teste de Kruskal-Wallis. O teste ANOVA foi aplicado para dados que atenderam aos pressupostos de distribuição normal e homogeneidade de variâncias, verificados pelo Teste de Shapiro-Wilk e pelo Teste de Levene, respectivamente. Quando os dados não atenderam aos pressupostos da ANOVA, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis em conjunto com o Teste qui-quadrado para interpretação dos resultados.

3.7. Tratamento e descarte de resíduos da pesquisa

Os resíduos químicos gerados durante a realização da pesquisa foram encaminhados para a área de resíduos do Departamento de Biologia Geral e Aplicada da Unesp – Rio Claro, armazenados em frascos devidamente rotulados. Os resíduos biológicos gerados foram eliminados por meio de esterilização na autoclave.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Aspecto geral das colunas de Winogradsky

Para manter estável o nível do componente líquido da coluna, foram realizadas recargas da fase líquida nas semanas 2, 4, 6 e 8 do experimento. As recargas foram realizadas depois da mensuração dos níveis de pH e condutividade elétrica e coleta de amostras para a realização de testes.

Todas as colunas de Winogradsky montadas apresentaram mudanças visualmente perceptíveis em relação a cor da fase líquida, desenvolvimento de algas e cianobactérias, e ocorrência de bolhas na superfície e no sedimento.

Logo após a montagem das colunas foi observada a coloração marrom devido a adição do meio líquido e consequente ascensão do sedimento e nutrientes do fundo das colunas (Figura 5).

Figura 5 - Colunas de Winogradsky logo após a montagem.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Decorridas 12 horas após a montagem, as colunas já apresentavam aspecto clarificado devido a decantação do solo (Figura 6). As Colunas dos Lava-rápidos A e B apresentavam odor desagradável forte, semelhante ao de esgoto, e bolhas visíveis na superfície, indicando a atividade de microrganismos.

Estas características também foram relatadas como comuns Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs), onde processos anaeróbios são responsáveis pela produção de odor, provenientes tanto de gases inorgânicos como de compostos orgânicos voláteis (Schirmer, 2004), além de compostos sulfurados (H_2S , mercaptanas e outros polienxofres), nitrogenados (NH_3 e aminas cíclicas) e

hidrocarbonetos, como fenóis, aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos graxos (Belli; Lisboa, 1998 *apud* Schirmer, 2004).

Figura 6 - Colunas de Winogradsky 12 horas após a montagem.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Na segunda semana de experimento, as colunas já apresentaram alterações de odor e coloração (Figura 7). As colunas A ainda possuíam odor desagradável intenso e formação de muitas bolhas. As colunas B já não apresentavam odor intenso, apesar de ainda presente, e a coloração alterou-se para cinza-azulada próximo ao solo. Esta alteração possivelmente estava relacionada à formação de uma região anóxica no fundo das colunas e ação anaeróbia de Bactérias Redutoras de Sulfato (BRSs). As BRSs utilizam o sulfato (SO_4^{2-}) comoceptor final de elétrons, reduzindo-o a sulfeto (H_2S), que é liberado como subproduto no meio (Madigan *et al.*, 2016). A produção de H_2S é considerada a mais importante reação de geração de odor em ETEs (Schirmer, 2004).

Todas as colunas apresentavam um agregado de coloração marrom e textura pegajosa na superfície, possivelmente devido a formação de um biofilme, uma adesão de células bacterianas envoltas por uma matriz de polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos excretadas pelos microrganismos (Magidan *et al.*, 2016).

Para a água das Colunas C não foram observadas alterações marcantes de odor e coloração.

Figura 7 - Colunas de Winogradsky na 2ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

A terceira semana do experimento apresentou a mudança mais drástica de coloração (Figura 8). Nas colunas A, e mais intensamente nas Colunas C, ocorreu a proliferação de organismos fototróficos oxigênicos, como algas e cianobactérias, resultando em aspecto verde na fase líquida e laterais das colunas. As colunas B não apresentaram este efeito, porém foi possível observar a diminuição na intensidade da coloração azul-acinzentada da semana anterior e formação de manchas de coloração marrom nas paredes das colunas.

Houveram também alterações em relação ao odor. As colunas A e B não mais apresentavam odor notável, enquanto as colunas C passaram a apresentar odor característico de algas. Todas as colunas possuíam bolhas na superfície e no fundo, porém na coluna A, as bolhas eram visíveis apenas no fundo e quando a coluna era agitada.

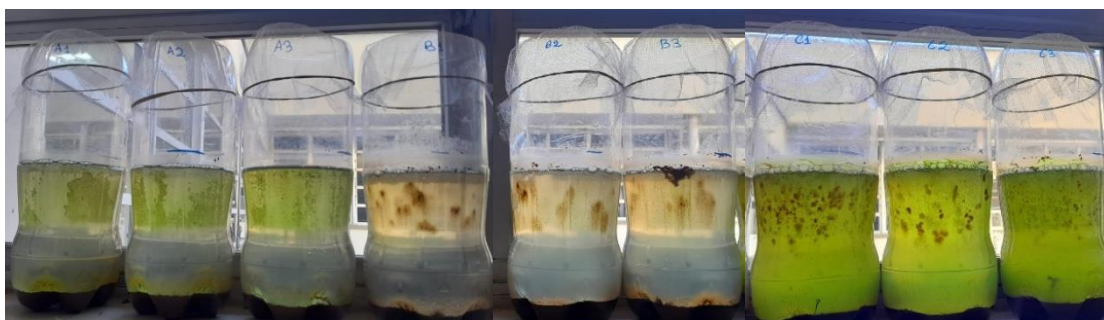
A própria dinâmica dos microrganismos nas colunas de Winogradsky, com a formação de estratificações, contribui para a remoção do odor. Nesse processo, a rápida proliferação de algas e cianobactérias, que produzem oxigênio (O_2) como subproduto de seu metabolismo, foram relatadas por contribuírem para a estratificação da coluna, formando uma região óxica (Madigan *et al.*, 2016). A concentração elevada de oxigênio no meio oxida o sulfeto (H_2S) odorante em formas ionizadas não odorantes, como o enxofre elementar (S^0) e o sulfato (SO_4^{2-}) (Schirmer, 2004). A oxidação do sulfeto, responsável pelo odor, também foi vista por ser realizada por bactérias quimiolitotróficas, como as dos gêneros *Thiobacillus*, *Achromatium*, *Beggiatoa*. Essas bactérias gram-negativas têm sido relatadas por utilizarem compostos reduzidos de enxofre como doadores de elétrons, algumas oxidam o

sulfeto (H_2S) a enxofre elementar (S^0) e o depositam na forma de grânulos intra ou extracelulares (Madigan *et al*, 2016).

Em relação ao odor notado nas colunas C, o efeito pôde ter relação com a geomina, composto produzido por cianobactérias e responsável pela produção de odores e sabores terrosos em água doce (Madigan *et al.*, 2016).

Adicionalmente, a formação de bolhas são um indicativo da atividade microbiana nas diferentes camadas da coluna de Winogradsky. Bolhas nas porções aeróbicas, nesse contexto, indicavam a produção de oxigênio como subproduto do metabolismo energético de fototróficos oxigênicos, enquanto a formação de bolhas no fundo indicava a decomposição de matéria orgânica por organismos anaeróbios que habitavam o sedimento. Ressalta-se que, foi notável a menor atividade de microrganismos nas colunas A, além da proliferação mais lenta de algas e cianobactérias nas colunas B.

Figura 8 - Colunas de Winogradsky na 3ª semana do experimento. Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.

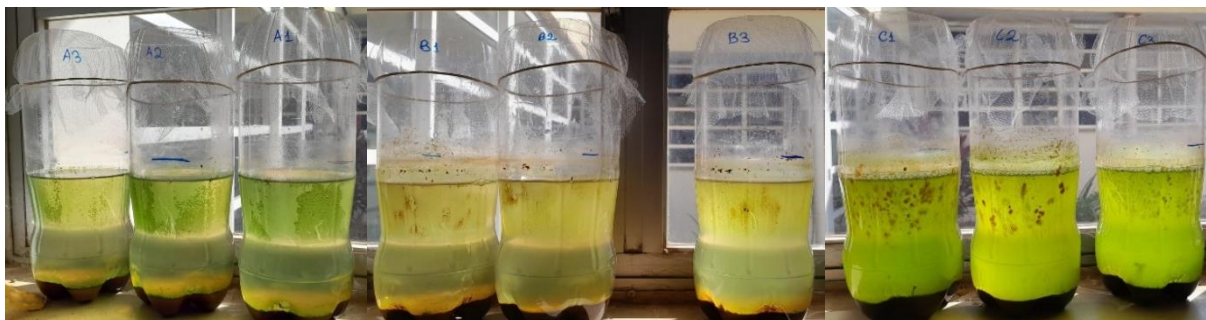


Fonte: Autora, 2024.

Na quarta semana de experimento, não foram observadas alterações significativas, apenas um leve aumento da intensidade da coloração esverdeada nas colunas A e B (Figura 9), indicando a proliferação ainda em curso de algas e cianobactérias.

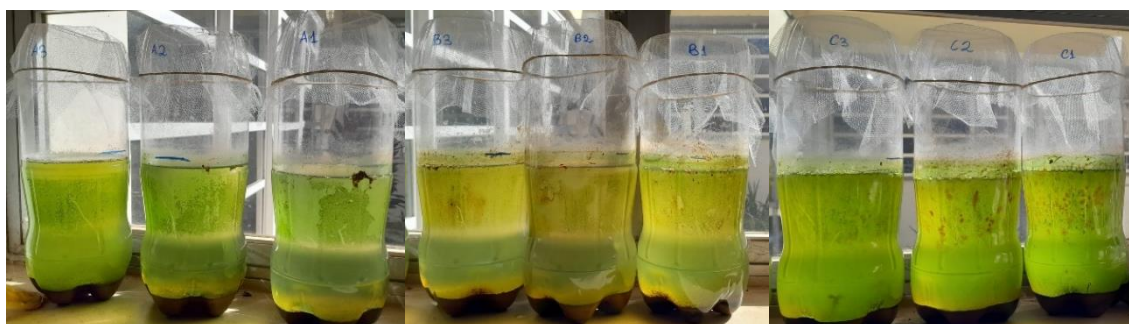
As colunas na semana 5 apresentaram características semelhantes às da quarta semana (Figura 10). Na semana 5, todas as colunas apresentavam coloração esverdeada, sendo mais intensas nas colunas C e menos intensas nas colunas B. A formação de bolhas era visível no fundo das colunas A e B, e na superfície em todos os três tratamentos, com menor intensidade na coluna A. Houve ausência de odor característico em todas as colunas.

Figura 9 - Colunas de Winogradsky na 4ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A3, A2, A1, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Figura 10 - Colunas de Winogradsky na 5ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A3, A2, A1, B3, B2, B1, C3, C2 e C1.



Fonte: Autora, 2024.

Nas semanas 6, 7, 8 e 9 (Figuras 11-14), não foram observadas mudanças marcantes nas colunas.

Na sexta semana ainda foi possível observar a formação de bolhas na superfície do efluente C e no fundo para os efluentes A e B. As colunas A apresentavam menor intensidade na formação de bolhas em comparação com os outros tratamentos. Nas semanas seguintes, as bolhas eram visíveis apenas no fundo das colunas, ocorrendo quando os efluentes eram levemente agitados ou quando uma amostra era coletada, o que indicava uma diminuição na atividade microbiana.

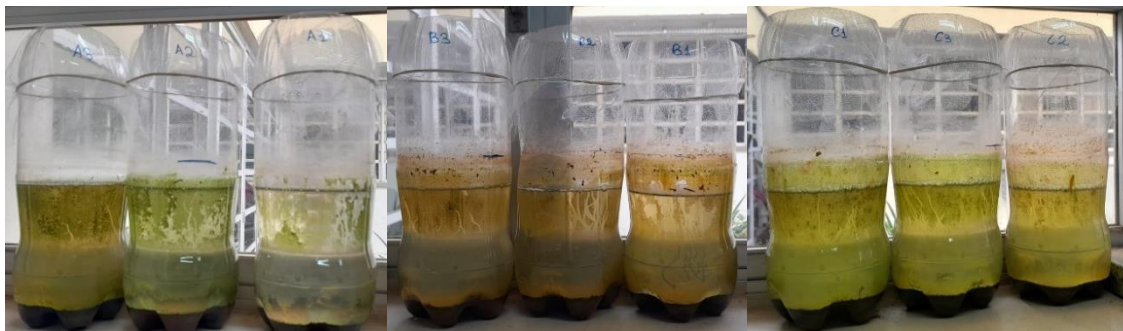
As colunas C apresentavam coloração esverdeada mais visível, porém mais transparente em relação às semanas anteriores. As colunas A e B também exibiam aspecto esverdeado mais claro, sendo a coluna A a mais transparente dentre os tratamentos.

Em estudo da variação temporal e espacial de microrganismos em colunas de Winogradsky, Esteban; Hysa e Bartow-McKenney (2015) observaram que em táxons de cianobactérias ocorre a dinâmica de "*Conditionally Rare Taxa*"- CRT ("táxons

condicionalmente raros”, em tradução literal), isto é, táxons que apresentam baixa abundância, mas que se tornam prevalentes ao longo do tempo. O estudo revelou que o declínio na abundância de um gênero de cianobactéria coincidia com o aumento de outro, que rapidamente proliferava para ocupar o nicho deixado.

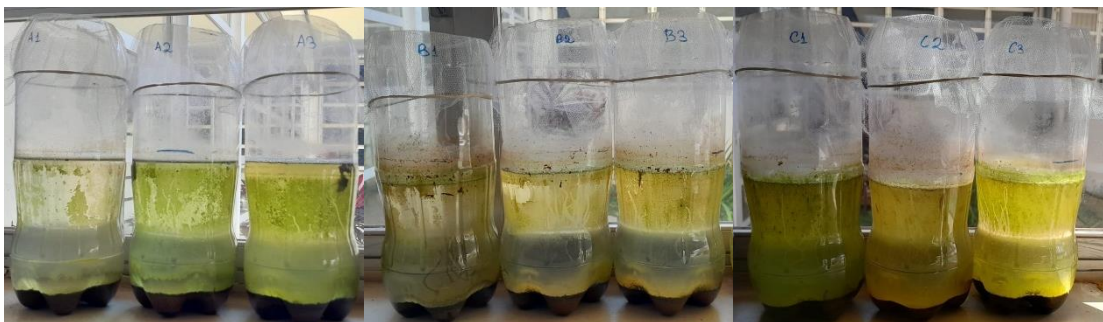
Neste contexto, nas colunas do presente experimento pôde ter ocorrido toxicidade dos efluentes para populações de alguns gêneros de cianobactérias. Os efluentes poderiam ter acelerado o processo de declínio nos tratamentos A e B, como evidenciado pelo clareamento mais rápido da coloração verde da fase líquida em comparação com as colunas C, que mantiveram a coloração verde, embora mais clara em relação às semanas anteriores.

Figura 11 - Colunas de Winogradsky na 6ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A3, A2, A1, B3, B2, B1, C1, C3 e C2.



Fonte: Autora, 2024.

Figura 12 - Colunas de Winogradsky na 7ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Figura 13 - Colunas de Winogradsky na 8ª semana do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Figura 14 - Colunas de Winogradsky na semana final do experimento.
Da esquerda para a direita: Colunas A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2 e C3.



Fonte: Autora, 2024.

Ao longo das nove semanas de experimento, através de constatações visuais, notou-se que em ambos os efluentes ocorreram alterações na microbiota em relação ao controle. As Colunas A e B apresentaram desenvolvimento mais lento e declínio mais acelerado de cianobactérias e algas. Além disso, notou-se maior atividade no sedimento, evidenciada pela maior produção de bolhas em ambas as colunas quando comparadas ao controle. As duas características citadas foram mais acentuadas nas colunas B do que nas colunas A.

4.2. Condutividade elétrica

Os valores de condutividade elétrica (mS/cm) mensurados semanalmente e as médias entre os tratamentos foram apresentados na Tabela 2.

Relatos na literatura indicam que valores de condutividade elétrica para os efluentes de lavagem de automóveis possuem grande variação. Woźniak, Dubicki e Gryta (2023) registraram 1232 $\mu\text{S/cm}$ para um efluente proveniente de estabelecimento com lavagem automática e 2690 $\mu\text{S/cm}$ e 2495 $\mu\text{S/cm}$ para

estabelecimentos com lavagem manual, valores semelhantes aos mensurados na primeira semana do presente experimento.

Tabela 2 - Condutividade elétrica mensurada nos tratamentos ao longo das semanas.

Condutividade elétrica (mS/cm)												
Tempo (semanas)	Controle (lago IB)				Lava-rápido A				Lava-rápido B			
	C1	C2	C3	$\bar{x}$	A1	A2	A3	$\bar{x}$	B1	B2	B3	$\bar{x}$
1	1,14	1,18	1,20	1,17	1,08	3,03	1,61	1,91	1,30	1,84	2,01	1,71
2	5,14	5,19	4,43	4,92	4,71	6,40	6,25	5,79	6,18	5,57	5,45	5,73
3	8,64	8,30	8,36	8,43	8,58	8,78	8,98	8,78	8,90	8,73	8,73	8,79
4	8,18	7,94	8,03	8,05	8,38	8,55	8,87	8,60	8,73	8,48	8,36	8,52
5	5,59	5,71	5,50	5,60	6,05	5,94	5,84	5,94	5,81	5,74	5,64	5,73
6	6,41	6,80	6,40	6,54	6,47	6,53	6,24	6,41	6,68	6,51	6,20	6,46
7	6,07	6,09	6,09	6,08	5,91	5,87	5,58	5,79	6,06	5,72	5,89	5,89
8	7,01	7,09	6,89	7,00	6,86	7,16	6,70	6,91	7,02	6,94	6,86	6,94
9	5,76	5,62	5,55	5,64	6,24	6,19	6,09	6,17	5,74	5,91	5,80	5,82

Fonte: Autora, 2024.

Neste estudo, conforme valores tabelados e gráfico da Figura 16, entre tratamentos não houveram grandes variações na condutividade elétrica. Em média, as maiores diferenças ocorreram na segunda semana de experimento, entre os tratamentos C (4,92 mS/cm) e A (5,79 mS/cm), com diferença de 0,87 mS/cm, e entre os tratamentos C (4,92 mS/cm) e B (5,73 mS/cm), com diferença de 0,81 mS/cm (Tabela 3).

Tabela 3 - Diferença de condutividade elétrica (mS/cm) entre tratamentos ao longo das semanas.

Diferença entre tratamentos (mS/cm)			
Tempo (semanas)	C-A	C-B	A-B
1	-0,73	-0,54	0,19
2	-0,87	-0,81	0,05
3	-0,35	-0,35	-0,01
4	-0,55	-0,47	0,08
5	-0,34	-0,13	0,21
6	0,12	0,07	-0,05
7	0,30	0,19	-0,10
8	0,09	0,06	-0,03
9	-0,53	0,17	0,36

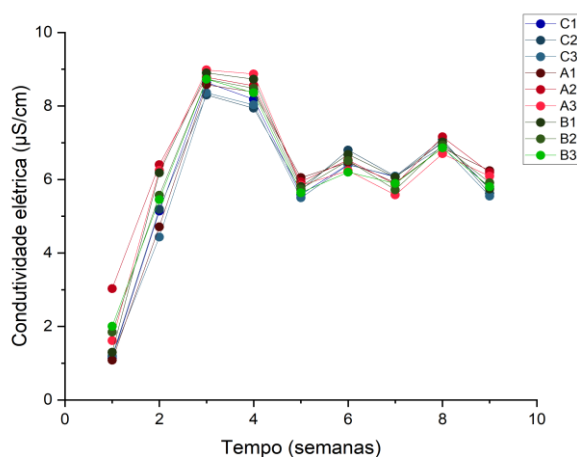
Fonte: Autora, 2024.

Analisando a diferença de valores de condutividade elétrica entre tratamentos (Tabela 3), notou-se que ocorreu maior diferença dos tratamentos A e B em comparação com o Controle (C-A e C-B, Tabela 3), do que quando comparados os tratamentos dos lava-rápidos (A-B, Tabela 3).

É importante ressaltar que os efluentes provenientes dos lava-rápidos apresentaram concentrações dependentes de diversos fatores, como a quantidade de água utilizada pelos funcionários para a lavagem dos veículos, quantidade de veículos lavados por dia, limpeza da caixa de areia e a época do ano. Conforme reportado por um dos responsáveis pelo lava-rápido, em época de chuva ocorre maior demanda de lavagem, assim como é utilizada maior quantidade de água para remover a lama dos veículos.

Em relação à variação ao longo do experimento, houve um aumento substancial nos valores de condutividade elétrica entre a semana 1 e 3, seguida de redução entre as semanas 3 e 5, e estabilização da semana 5 até o fim do experimento (Figura 15). O rápido aumento no início do experimento estava provavelmente associado a dissociação química de sais e nutrientes na água, além da atividade de microrganismos. Krishnamurti e Kate (1951) sugeriram uma relação entre o crescimento bacteriano e a condutividade elétrica desde a fase *lag* de crescimento, quando um aumento na síntese de aminoácidos por bactérias foi observado por estar relacionado à um aumento na condutividade elétrica do meio.

Figura 15 - Variação da condutividade elétrica nos tratamentos ao longo das semanas.



Fonte: Autora, 2024.

4.3. pH

Os valores de pH mensurados semanalmente foram apresentados na tabela 4:

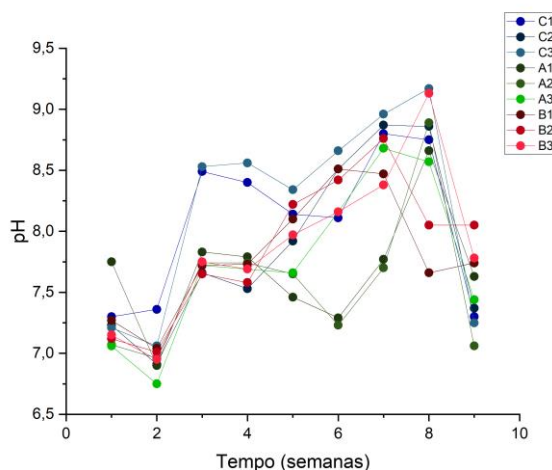
Tabela 4 - Valores de pH mensurados nos tratamentos ao longo do tempo.

pH												
Tempo (semanas)	Controle (lago IB)				Lava-rápido A				Lava-rápido B			
	C1	C2	C3	$\bar{x}$	A1	A2	A3	$\bar{x}$	B1	B2	B3	$\bar{x}$
1	7,3	7,23	7,21	7,25	7,75	7,07	7,06	7,29	7,27	7,1	7,15	7,17
2	7,36	6,91	7,06	7,11	6,9	6,96	6,75	6,87	7,04	7	6,95	7,00
3	8,49	7,66	8,53	8,23	7,83	7,74	7,72	7,76	7,72	7,7	7,75	7,72
4	8,4	7,53	8,56	8,16	7,79	7,74	7,69	7,74	7,73	7,6	7,69	7,67
5	8,14	7,92	8,34	8,13	7,46	7,65	7,66	7,59	8,1	8,2	7,97	8,09
6	8,11	8,51	8,66	8,43	7,29	7,23	8,16	7,56	8,51	8,4	8,16	8,36
7	8,8	8,87	8,96	8,88	7,77	7,7	8,68	8,05	8,47	8,8	8,38	8,55
8	8,75	8,86	9,17	8,93	8,66	8,89	8,57	8,71	7,66	8,1	9,13	8,30
9	7,3	7,37	7,25	7,31	7,63	7,06	7,44	7,38	7,74	8,1	7,78	7,87

Fonte: Autora, 2024.

Em geral, as colunas apresentaram pH inicial em torno de 7,2, que aumentou gradualmente ao longo das semanas. No entanto, este aumento ocorreu de forma mais rápida para as colunas C, que atingiram uma média de pH acima de 8 na terceira semana. Como demonstrado na figura abaixo, essa basificação aconteceu de forma mais gradual nas colunas B e A que atingiram valores de pH superiores a 8 apenas na quinta e sétima semana, respectivamente (Tabela 4). O pico de alcalinidade foi seguido de queda ao fim do experimento, com valores entre 7,06 (coluna A1) e 8,1 (coluna B2) (Figura 16).

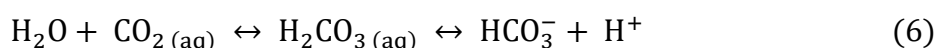
Figura 16 - Variação do pH nos tratamentos ao longo das semanas.



Fonte: Autora, 2024.

Suleiman (2021), em estudo com colunas de Winogradsky com predominância da fase líquida, observou que ocorre um gradiente de pH ao longo da coluna d'água. O pH apresentou-se levemente alcalino na superfície (~pH 9,0 no controle com água estéril) e levemente mais ácido no fundo (~pH 7,5 no controle com água estéril). Este gradiente provavelmente ocorreu devido à degradação da matéria orgânica que ocorria ao fundo da coluna e às reações da fotossíntese desempenhadas por algas e cianobactérias na superfície (Suleiman, 2021).

Nos resultados observados no atual estudo, a fotossíntese provavelmente desempenhou um importante papel para o aumento da alcalinidade devido à assimilação de dióxido de carbono (CO_2) para a síntese de carboidratos, visto que o CO_2 dissolvido em água tende a manter o equilíbrio dissociando-se em ácido carbônico (H_2CO_3) e íon hidrogênio (H^+), que por sua vez se dissociam em bicarbonato (HCO_3^-) e íon carbonato (CO_3^{2-}) (Equações 5 a 7), processos que diminuem o pH da água.



A mesma relação pôde ser aplicada às colunas dos tratamentos C, que obtiveram maiores valores de pH ao longo do experimento. O aumento de pH das colunas C coincidem com a floração de algas e cianobactérias entre a segunda e a

terceira semana. Os tratamentos dos lava-rápidos A e B, por sua vez, obtiveram valores mais baixos de pH, resultado que poderia estar associado ao desenvolvimento menos acentuado e mais tardio destes organismos fotossintetizantes.

Suleiman (2021) ainda destaca que, em experimentos feitos com a adição do nutriente fosfato de monoamônio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), o gradiente de pH entre fundo e superfície foi neutralizado, na qual em ambas as fases analisadas indicavam o ~pH 6,0. A alta concentração de nutrientes e matéria orgânica no efluente dos lava-rápidos, portanto, também poderia ter desempenhado um papel importante na diminuição do pH e na dinâmica das comunidades microbianas. Nesse contexto, acreditou-se que as mudanças no pH alteraram a composição e atividade dos microrganismos, afetando também as espécies que cresciam e estavam em maior abundância (Rogan et al., 2005; Abbasian et al., 2015).

4.4. Unidades Formadoras de Colônias (UFCs)

A média de UFCs/mL registrada entre duplicadas de cada tratamento variou entre $3,795 \times 10^6$ UFC/mL, valor máximo, obtido para a coluna B2 após 30 dias de experimento, e $5,6 \times 10^4$ UFC/mL, valor mínimo, obtido na coluna B1 após 60 dias de experimento (Tabela 5).

Tabela 5 - UFCs/mL registradas por tratamento ao longo do experimento.

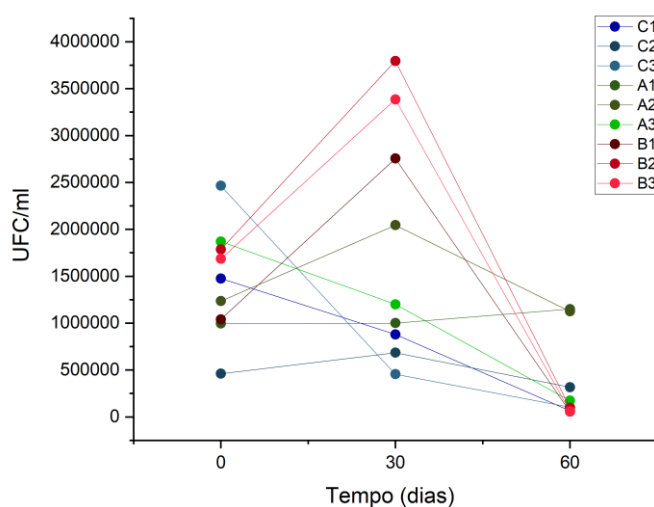
		UFC/mL		
Tratamento		Tempo (dias)		
		0	30	60
Controle (lago do IB)	C1	1,475E+06	8,80E+05	6,60E+04
	C2	4,60E+05	6,85E+05	3,165E+05
	C3	2,465E+06	4,55E+05	1,03E+05
Lava-rápido A	A1	9,95E+05	1,00E+06	1,15E+06
	A2	1,235E+06	2,045E+06	1,125E+06
	A3	1,87E+06	1,20E+06	1,73E+05
Lava-rápido B	B1	1,04E+06	2,755E+06	5,60E+04
	B2	1,785E+06	3,795E+06	9,80E+04
	B3	1,685E+06	3,385E+06	6,00E+04

Fonte: Autora, 2024.

Dentre as nove colunas, as C2, A2, B1, B2 e B3 apresentaram aumento no número de UFCs entre 0 e 30 dias, seguido de declínio ao final dos 60 dias de experimento (Figura 17). Esse comportamento muito provavelmente estava vinculado

às fases de crescimento exponencial, estacionária e de declínio dos microrganismos. Por outro lado, as demais colunas, C1, C3, e A3, apresentaram maior número de UFCs registradas no início do experimento com declínio gradual nas demais semanas. Já a coluna A1 apresentou poucas alterações na contagem ao longo das semanas, com variação entre $9,95 \times 10^5$ e $1,15 \times 10^6$ UFCs/mL entre o início e o fim do experimento (Tabela 5).

Figura 17 – UFC/mL registradas por tratamento ao longo do experimento.



Fonte: Autora, 2024.

Para verificar se houve diferença significativa no número de UFCs/mL entre os tratamentos C, A e B, primeiramente aplicou-se o teste de Shapiro-Wilk para determinar se os dados obtidos estavam distribuídos de forma normal. Os p-valores obtidos nas análises foram iguais a 0,05437, 0,23694 e 0,2522, respectivamente, indicando uma distribuição normal. Prosseguiu-se, então, a aplicação do teste paramétrico *One Way ANOVA*, com nível de confiança de 0,05. Os resultados indicaram que, as médias dos tratamentos, não eram significativamente diferentes ($\text{Prob}>F = 0,20604$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultados do teste One way ANOVA entre os tratamentos C, A e B.
GL = Graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = quadrado médio.

Overall ANOVA					
	GL	SQ	QM	Valor de F	Prob>F
Modelo	2	3,33983E12	1,66991E12	1,6884	0,20604

Erro	24	2,37372E13	9,89051E11
Total	26	2,70771E13	

Fonte: Autora, 2024.

Apesar de não ter havido diferenças estatísticas significativas entre os valores obtidos, observa-se que as colunas B obtiveram valores com menor desvio padrão, com grande aumento de colônias após trinta dias, seguido de declínio acentuado nas últimas semanas. As colunas C e A, por outro lado obtiveram maior desvio, mesmo entre replicadas do mesmo tratamento.

O número de colônias obtidos para os efluentes no início do experimento foi semelhante ao obtido por Woźniak, Dubicki e Gryta (2023), que contabilizou entre 2,87 e 3,71 x 10⁶ UFC/ml de efluentes de lavagem de carros coletados na cidade de Szczecin, Polônia. No trabalho, foram identificadas mais de 30 espécies de bactérias, algumas específicas à diferentes efluentes examinados. O resultado, de acordo com os autores, demonstrou a especificidade na composição na microbiota de cada efluente de lavagem de carros.

4.5. Fitotoxicidade

Foram realizados cinco ensaios de fitotoxicidade, um a cada quinze dias, e os resultados divergiram entre as espécies testadas. As sementes de rúcula (*E. sativa*) obtiveram maiores valores de IG (Tabela 7) em comparação com as sementes de alface (*L. sativa*) (Tabela 8).

Tabela 7 - Índice de Germinação (%) de *E. sativa* ao longo do tempo (dias).

Rúcula (<i>E. sativa</i>) - IG					
	0	15	30	45	60
C1	134,23	135,43	127,05	147,20	169,92
C2	133,29	112,86	116,93	152,70	92,48
C3	124,33	123,62	129,26	161,65	149,87
A1	122,24	107,14	118,44	118,83	136,84
A2	103,96	116,48	98,30	129,74	107,27
A3	137,25	97,90	109,22	157,14	144,36
B1	137,83	143,90	130,76	180,02	184,21
B2	144,12	128,76	134,97	180,25	178,45
B3	134,46	133,81	130,26	155,91	191,98

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 8 - Índice de Germinação (%) de *L. sativa* ao longo do tempo (dias).

Alface (<i>L. sativa</i>) - IG					
	0	15	30	45	60
C1	87,46	47,64	79,03	83,61	69,83
C2	92,18	64,78	71,92	86,56	84,70
C3	104,28	57,70	97,40	97,05	79,45
A1	77,58	55,35	60,14	66,81	70,00
A2	71,98	51,89	71,58	69,67	69,79
A3	71,98	55,35	68,28	71,80	68,95
B1	117,40	79,56	80,59	100,49	84,18
B2	108,41	97,64	108,67	124,59	81,90
B3	51,86	33,84	30,11	34,71	25,20

Fonte: Autora, 2024.

Em ambas as espécies, o controle positivo com sulfato de zinco apresentou efeito inibitório no desenvolvimento das plântulas. Nessa condição, todas as sementes testadas não germinaram ou não obtiveram o valor mínimo de 0,1 mm de crescimento radicular (Figura 18). Em relação ao controle negativo com água deionizada, observou-se efeito distinto entre as sementes testadas. As sementes de alface (*L. sativa*) obtiveram taxa de germinação de 96,5%, e as sementes de rúcula (*E. sativa*) obtiveram taxa levemente inferior, de 90,5%. Os resultados já eram esperados, visto que as taxas de germinação informadas pelos fabricantes eram de 98% e 90%, respectivamente.

Figura 18 - Sementes de rúcula (*E. sativa*) após 5 dias de incubação a 21°C em meio contendo solução de Sulfato de Zinco 0,05mol/L.

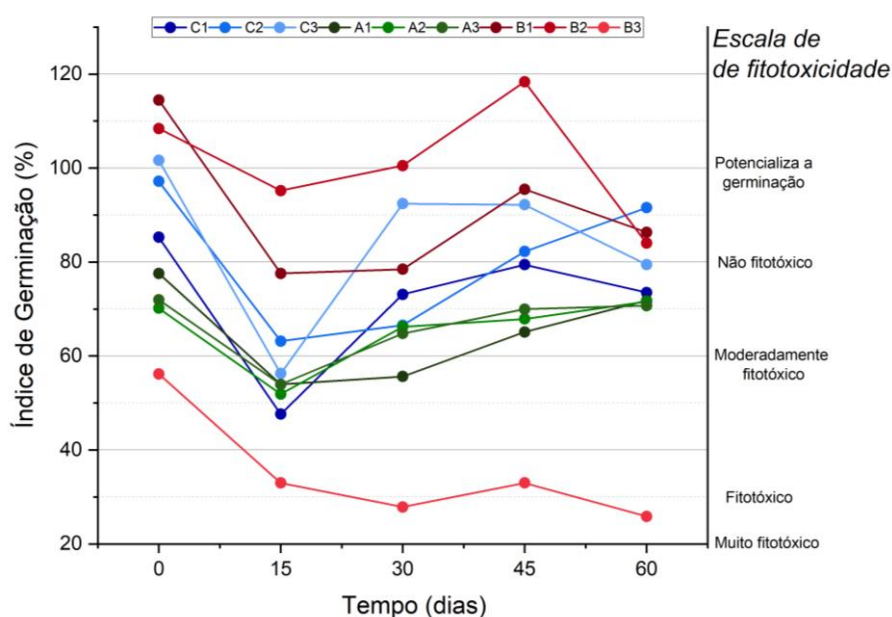
Fonte: Autora, 2024.

4.5.1. Índice de Germinação de sementes ao longo do tempo

O IG, entretanto, sofreu grande variação em relação à espécie de planta utilizada, efluente de lava-rápido e data de aplicação dos testes fitotóxicológicos (Figura 19-20).

No teste com alface (*L. sativa*), as sementes tratadas com efluente C obtiveram IG classificado entre “potencializa a germinação” e “fitotóxico”; sementes com tratamento A, que continham resíduo do lava-rápido A, obtiveram menor variação, entre a classificação “moderadamente fitotóxico” e “fitotóxico”. As sementes do tratamento B, que continham resíduo do lava-rápido B, por sua vez, obtiveram uma maior variação, classificadas entre “potencializa a germinação” e “muito fitotóxico” (Figura 19). Todos as colunas testadas obtiveram queda no IG após 15 dias, seguido de aumento gradual ao longo das semanas do experimento. Ao final, todos os tratamentos apresentaram queda na classificação de fitotoxicidade.

Figura 19 - IG (%) e Classificação de fitotoxicidade de Bello (2011) das sementes de *L. sativa* ao longo do tempo (dias).



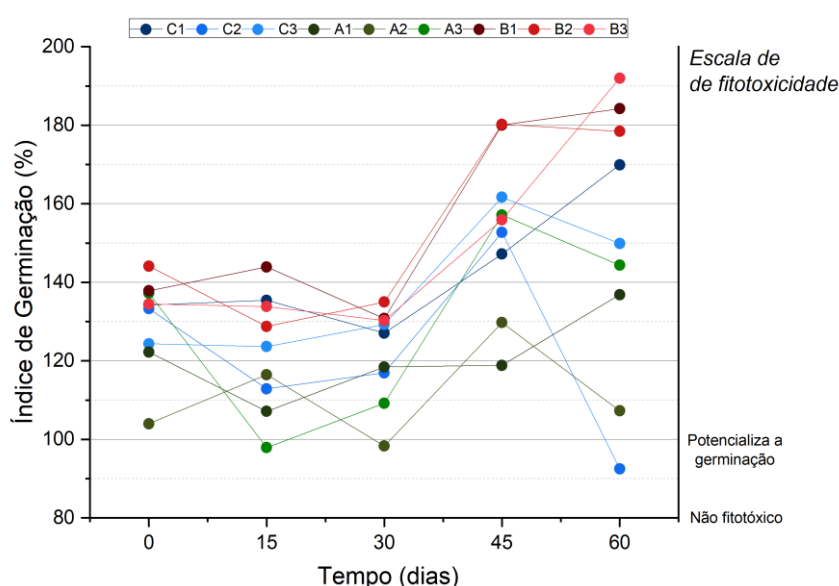
Fonte: Autora, 2024.

Os ensaios realizados com as sementes de rúcula, por sua vez, obtiveram menor variação na classificação. O IG calculado para a maior parte das sementes indicou a classificação “potencializa a germinação”, com exceção apenas para as colunas C2 em 60 dias, A2 em 30 dias e A3 em 15 dias que obtiveram a classificação

“não fitotóxico” (Figura 20). Destacou-se também um aumento no IG nas últimas semanas do experimento, mais pronunciado para as colunas do tratamento B.

O resultado positivo obtido pelos efluentes pode ser explicado pelo baixo desenvolvimento das sementes de rúcula tratadas com água deionizada, que obtiveram uma média baixa de germinação em relação aos demais tratamentos. Esse resultado influenciou o IG calculado para a maioria dos tratamentos resultassem em valores acima de 100%.

Figura 20 - IG (%) e Classificação de fitotoxicidade de Bello (2011) das sementes de rúcula (*E. sativa*) ao longo do tempo (dias).



Fonte: Autora, 2024.

Em geral, observou-se que o IG seguiu a ordem $B > C > A$ em termos fitotóxicos, com classificações entre “potencializa a germinação” a “moderadamente fitotóxico”.

Ao longo do experimento, observa-se um aumento gradual no IG após 15 para as sementes de alface (*L. sativa*) e 30 dias para as de rúcula (*E. sativa*). Este aumento pode estar relacionado à estabilização na comunidade microbiana, condutividade elétrica e pH que sofreram grandes mudanças nas primeiras semanas.

4.5.2. Comparação da fitotoxicidade entre tratamentos

4.5.2.1. Crescimento radicular

Para avaliar se o efeito dos efluentes dos lava-rápidos e do lago paisagístico (controle) resultavam em diferença significativa em relação ao controle (água deionizada), aplicou-se o teste *One way ANOVA* para a variável crescimento da radícula das sementes de alface (*L. sativa*) e rúcula (*E. sativa*).

Para as sementes de alface (*L. sativa*), com nível de confiança 0,05, verificou-se que as médias entre os tratamentos eram significativamente diferentes em relação ao controle ($\text{Prob}>F = 0,00133$) (Tabela 9). Por meio do teste de Tukey, conforme indicado na Tabela 10, os tratamentos A1, A2 e A3 apresentaram médias significativamente diferentes do controle ($\text{sig} = 1$) com nível de confiança de 0,05.

Tabela 9 - Resultados do teste *One way ANOVA* entre os tratamentos referente às médias de crescimento radicular em *L. sativa*.

<i>L. sativa</i> - Overall ANOVA					
	GL	SQ	QM	Valor de F	Prob>F
Modelo	9	2,16572	0,24064	3,88056	0,00133
Erro	40	2,48042	0,06201		
Total	49	4,64614			

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 10 - Resultados do teste de Tukey para verificar a significância das médias entre tratamentos e controle (água) em *L. sativa*.

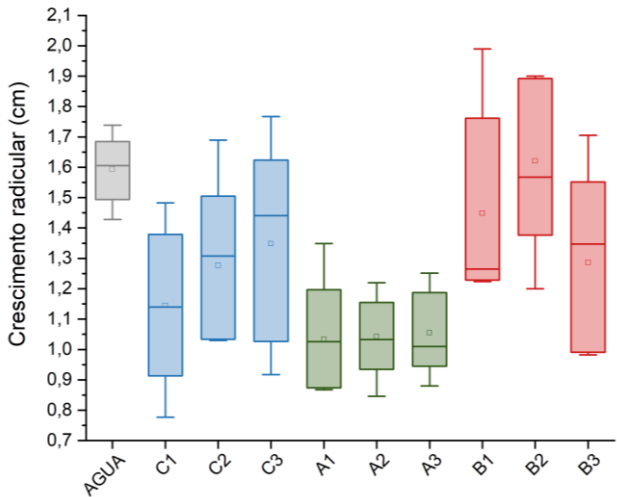
Dif.Média = Diferença média; DPM = Desvio Padrão da Média; Prob = Probabilidade; Sig = Significância; LIC = Limite Inferior de Controle; LSC = Limite Superior de Controle.

<i>L. sativa</i> - Crescimento radicular médio								
Teste de Tukey								
	Dif. Média	DPM	Valor q	Prob	Alpha	Sig	LIC	LSC
C1	-0,447	0,157	4,019	0,157	0,05	0	-0,974	0,079
C2	-0,315	0,157	2,833	0,601	0,05	0	-0,842	0,211
C3	-0,244	0,157	2,193	0,862	0,05	0	-0,771	0,282
A1	-0,559	0,157	5,020	0,030	0,05	1	-1,086	-0,031
A2	-0,550	0,157	4,941	0,034	0,05	1	-1,077	-0,023
A3	-0,537	0,157	4,826	0,042	0,05	1	-1,064	-0,010
B1	-0,143	0,157	1,289	0,995	0,05	0	-0,670	0,383
B2	0,028	0,157	0,255	1	0,05	0	-0,498	0,555
B3	-0,305	0,157	2,746	0,641	0,05	0	-0,833	0,221

Fonte: Autora, 2024.

O tratamento A apresentou menor dispersão e menores valores de crescimento radicular entre os três tratamentos (Figura 21).

Figura 21 - Dispersão do crescimento radicular registrado para as sementes de *L. sativa* nos três tratamentos (A, B e C) e controle (água deionizada).



Fonte: Autora, 2024.

Se tratando das sementes de rúcula (*E. sativa*), o teste *One way* ANOVA indicou que as médias entre tratamentos e controle eram significativamente diferentes (prob>F = <0,0001) (Tabela 11). Por meio do Teste de Tukey, verificou-se que os tratamentos C1, C3, B1, B2 e B3, apresentaram médias que divergiram do tratamento controle (sig=1), com nível de confiança de 0,05 (Tabela 12).

Tabela 11 - Resultados do teste ANOVA entre os tratamentos referente às médias de crescimento radicular em *E. sativa*.

<i>E. sativa</i> - Overall ANOVA					
	GL	SQ	QM	Valor de F	Prob>F
Modelo	9	8,78528	0,97614	7,05048	<0.0001
Erro	40	5,53802	0,13845		
Total	49	14,3233			

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 12 - Resultados do teste de Tukey para verificar a significância das médias entre tratamentos e controle (água) em *E. sativa*.

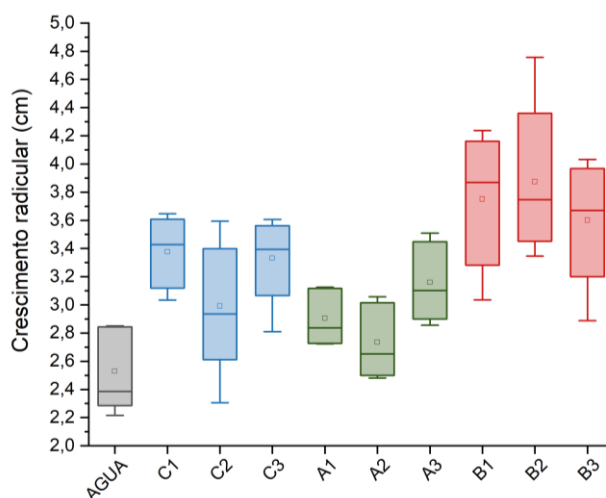
<i>E. sativa</i> - Crescimento radicular médio								
Teste de Tukey								
	Dif. Média	DPM	Valor q	Prob	Alpha	Sig	LIC	LSC

C1	0,847	0,23533	5,09001	0,02645	0,05	1	0,05915	1,63484
C2	0,46217	0,23533	2,7774	0,62761	0,05	0	-0,32567	1,25001
C3	0,80139	0,23533	4,81594	0,04336	0,05	1	0,01355	1,58923
A1	0,37619	0,23533	2,26071	0,84099	0,05	0	-0,41165	1,16403
A2	0,20693	0,23533	1,24353	0,9963	0,05	0	-0,58091	0,99477
A3	0,63115	0,23533	3,7929	0,21554	0,05	0	-0,15669	1,41899
B1	1,22137	0,23533	7,33984	2,53E-04	0,05	1	0,43353	2,00922
B2	1,34489	0,23533	8,08211	<0.0001	0,05	1	0,55705	2,13273
B3	1,07191	0,23533	6,44163	0,00178	0,05	1	0,28407	1,85975

Fonte: Autora, 2024.

Os cinco tratamentos com médias significativamente diferentes apresentaram valores de crescimento radicular mais altos em comparação com o controle. Além disso, os tratamentos B apresentaram maior dispersão de medidas de crescimento radicular em comparação com os outros tratamentos (Figura 23).

Figura 22 - Dispersão do crescimento radicular registrado para as sementes de *E. sativa* nos três tratamentos (A, B e C) e controle (água deionizada).



Fonte: Autora, 2024.

Em relação ao crescimento radicular, verificou-se que o tratamento A obteve médias significativamente menores de tamanho da radícula de sementes de alface (*L. sativa*). Os tratamentos B e C, por sua vez, apresentaram médias significativamente maiores em relação ao controle nas sementes de rúcula (*E. sativa*). No entanto, neste último resultado recomenda-se realizar uma investigação mais aprofundada na qualidade do crescimento das radículas. Apesar de não possível de ser quantificado neste estudo, ao longo do experimento, observou-se que nos testes realizados com

sementes de rúcula, muitas das radículas longas apresentavam crescimento tortuoso, diferente das demais.

Diversos mecanismos foram relatados por estarem envolvidos na inibição do crescimento de raízes. Compostos fitotóxicos foram reportados por interagirem com a parede celular, desencadeando alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares, como a alteração do fluxo de água e nutrientes, alteração da homeostase do fluxo de cálcio e distúrbios do ciclo celular (Peduto; Jesus; Kohatsu., 2019). Estas alterações, além de culminarem na diminuição do crescimento da raiz, podem levar a diminuição da qualidade estrutural da radícula, tais como o crescimento tortuoso, aspecto acinzentado e espessura fina, conforme observado por Peduto; Jesus e Kohatsu (2019).

4.5.2.2. Germinação de sementes

Se tratando da variável germinação de sementes foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (Tabelas 13 e 14), que não assumiam uma distribuição normal dos dados, seguido da aplicação do teste Qui-quadrado (Tabelas 15 e 16).

Em ambas as espécies a germinação de sementes não foi significativamente diferente do controle ao nível de confiança de 0,05. O teste qui-quadrado para as sementes de alface (*L. sativa*) resultou em $p=0,56951$ (Tabela 14), e as sementes de rúcula (*E. sativa*) obtiveram valor de $p= 0,45685$ (Tabela 16).

Tabela 13 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em *L. sativa*.

Alface (<i>L. sativa</i>)			
Teste de Kruskal-Wallis			
	N	Posto médio	Soma dos postos
C1	10	53,85	538,5
C2	10	52	520
C3	10	59,8	598
A1	10	50,4	504
A2	10	50,4	504
A3	10	45,7	457
B1	10	53,85	538,5
B2	10	55,1	551
B3	10	48,85	488,5
ÁGUA	10	35,05	350,5

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 14 - Resultados do teste de Qui-quadrado para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em *L. sativa*.

Alface (<i>L. sativa</i>)		
Teste Qui-quadrado (χ^2)		
X ²	GL	Prob> χ^2
7,65253	9	0,56951

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 15 - Resultados do teste de Kruskal-Wallis para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em *E. sativa*.

Rúcula (<i>E. sativa</i>)			
Teste de Kruskal-Wallis			
	N	Posto médio	Soma dos postos
C1	10	65,65	656,5
C2	10	50,75	507,5
C3	10	53,55	535,5
A1	10	56,3	563
A2	10	50,6	506
A3	10	44,9	449
B1	10	53,45	534,5
B2	10	39,05	390,5
B3	10	55,25	552,5
ÁGUA	10	35,5	355

Fonte: Autora, 2024.

Tabela 16 - Resultados do teste de Qui-quadrado para a germinação de sementes nos tratamentos e controle (água) em *E. sativa*.

Rúcula (<i>E. sativa</i>)		
Teste Qui-quadrado (χ^2)		
X ²	GL	Prob> χ^2
8,79031	9	0,45685

Fonte: Autora, 2024.

Portanto, o efluente não apresentou efeitos significativos em relação à variável germinação de sementes. Este resultado divergia do obtido por Al-Tabbal e Ammary (2014), em que foi observada diminuição na taxa de germinação e velocidade de germinação de sementes de cevada e cebola, além do aumento do crescimento de brotos paralelamente à diminuição no tamanho da raiz, quando as sementes foram tratadas com efluente de lava-rápidos. A presença de óleo usado na composição do

efluente foi apontado como motivo da queda na taxa de germinação, que diminuiu em um terço em relação ao controle.

5. CONCLUSÕES

Os lava-rápidos tem sido importantes geradores de efluentes associados à indústria automobilística. Neste estudo, quando resíduos de dois lava-rápidos foram adicionados em colunas de Winogradsky, foram evidenciadas alterações em relação ao pH de ambiente aquático simulado, e ao crescimento de radicular de sementes tratadas com estes efluentes.

A alteração nos dois fatores citados, muito provavelmente estavam relacionados à composição da comunidade microbiana aquática das colunas de Winogradsky, afetada pelos efluentes. Nas colunas com efluentes, observou-se desenvolvimento menos acentuado e mais tardio de organismos fototróficos oxigênicos, além de um maior desenvolvimento de microrganismos na região anóxica das colunas, evidenciada pela maior formação de bolhas no sedimento. O desenvolvimento dos organismos fotossintéticos pôde ter contribuído para uma elevação mais acentuada de pH nas colunas contendo água do lago paisagístico utilizado como controle.

Em relação aos testes de fitotoxicidade, obteve-se resultados distintos de acordo com a espécie de planta testada. Houve crescimento significativamente menor com sementes de alface (*L. sativa*) tratadas com o efluente do lava-rápido A e crescimento significativamente maior em sementes de rúcula (*E. sativa*) tratadas com efluentes do lava-rápido B e lago paisagístico (colunas C). Sendo, neste último, interessante investigar futuramente a qualidade do crescimento das radículas, visto que muitas apresentavam crescimento tortuoso.

É importante ressaltar que os lava-rápidos, em geral, possuíam concentrações de poluentes que dependiam de vários fatores que influenciavam a diluição do efluente. No presente estudo, foram coletadas amostras de estabelecimentos com características opostas, um lava-rápido com alta demanda, que realizava limpeza frequente da caixa de areia (A), e um lava-rápido com baixa demanda, que não realizava limpeza da caixa de areia com frequência (B). Estes fatores foram suficientes para gerar resultados distintos no pH e testes de fitotoxicidade. No entanto, não foram constatadas alterações na condutividade elétrica e número de UFC/mL em relação ao controle.

Por fim, conclui-se que ambos os efluentes de lavagem de veículos testados em ambiente aquático simulado em colunas de Winogradsky, não ocasionaram mudanças significativas na condutividade elétrica e contagem de UFCs, entretanto, ocasionaram alterações significativas nos valores de pH e possuíam potencial fitotóxico em relação ao fator crescimento de radículas. Neste sentido, demonstrou-se a importância de estudos do tema para enfatizar a necessidade do desenvolvimento e implementação de métodos para o tratamento desses efluentes urbanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASIAN, F. *et al.* A pyrosequencing-based analysis of microbial diversity governed by ecological conditions in the Winogradsky column. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Dordrecht, v. 31, p. 1115-1126, 2015.

AL-TABBAL, J. A.; AMMARY, B. Y. Effect of wastewater and grey water reuse on the germination and early growth of barley and onions. **Global NEST Journal**, v. 16, n. 5, p. 998-1005, 2014.

APHA. American Public Health Association. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington: APHA, 1998.

BOHN, F. P. **Tratamento do efluente gerado na lavagem de veículos**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Mecânica) – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Panambi, 2014.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução CONAMA nº273, de 29 de novembro de 2000**. Brasília, DF, 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. **Resolução CONAMA nº357, de 17 de março de 2005**. Brasília, DF, 2005.

CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Norma Técnica L5.201**. Contagem de bactérias heterotróficas: método de ensaio. São Paulo: CETESB, 2006. 14 p.

ESTEBAN, D. J.; HYSIA, B.; BARTOW-MCKENNEY, C. Temporal and spatial distribution of the microbial community of Winogradsky columns. **PLOS ONE**, v. 10, n. 8, p. e0134588, 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Demográfico 2022: Frota de Veículos**. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/22/28120>. Acesso em 12 mar. 2024.

KRISHNAMURTI, K.; KATE, S. R. Changes in electrical conductivity during bacterial growth. **Nature**, v. 168, n. 4265, p. 170-170, 1951.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14 ed. Artmed Editora, 2016. 960 p.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, Uberaba, v. 4, n. 2, p. 200-212, 2019.

RIO DE JANEIRO. Câmara Municipal do Rio de Janeiro. **Lei Ordinária nº2482, de 04 de outubro de 1996**. Dispõe sobre a obrigatoriedade de construção de caixas retentoras para os estabelecimentos que menciona, e dá outras providências. Rio de Janeiro, RJ, 1996.

ROGAN, B. *et al.* Exploring the sulfur nutrient cycle using the Winogradsky column. **The American Biology Teacher**, v. 67, n. 6, p. 348-356, 2005.

SARMADI, M. *et al.* Efficient technologies for carwash wastewater treatment: a systematic review. **Environmental Science and Pollution Research**, Heidelberg, v. 27, p. 34823-34839, 2020.

SARMADI, M. *et al.* Carwash wastewater characteristics-a systematic review study. **Desalination and Water Treatment**, v. 225, p. 112-148, 2021.

SCHIRMER, W. N. **Amostragem, análise e proposta de tratamento de compostos orgânicos voláteis e odorantes na estação de tratamento de efluentes de uma refinaria de petróleo**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Ideias de negócios sustentáveis: Lava jato. Brasília: SEBRAE, 2012. 58 p.

STUMPF, G., L. **Tratamento de efluente de lavagem de veículos automotores**. 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia Sanitária e Ambiental) – Universidade Estadual Centro-Oeste, Irtati, 2016.

TEIXEIRA, P. C. **Emprego da flotação por ar dissolvido no tratamento de efluentes de lavagem de veículos visando a reciclagem da água**. 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

WOŹNIAK, Piotr; DUBICKI, Mateusz; GRYTA, Marek. Microbiological Hazard Analysis of Car Wash Wastewater. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 32, n. 4, 2023.