

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA  
BACHARELADO EM QUÍMICA**

**ANDRESSA ASSUNÇÃO NAICO**

**ECOTOXICIDADE DE ACETONA E ETANOL APÓS FOTÓLISE UVC E  
PROCESSO UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**CURITIBA  
2019**

**ANDRESSA ASSUNÇÃO NAICO**

**ECOTOXICIDADE DE ACETONA E ETANOL ANTES E APÓS FOTÓLISE UVC E  
PROCESSO UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2 do Curso Superior de Bacharelado em Química do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) Campus Curitiba, como requisito da disciplina.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz  
Coorientadora: Profa. Dra. Adriane Martins de Freitas

CURITIBA  
2019

## **ANDRESSA ASSUNÇÃO NAICO**

### **ECOTOXICIDADE DE ACETONA E ETANOL ANTES E APÓS FOTÓLISE UVC E PROCESSO UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de bacharel em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Curitiba. Após deliberação, a banca examinadora composta pelos membros a seguir considerou o trabalho aprovado:

---

Prof. Dr. Gustavo Henrique Couto  
UTFPR-CT

---

Vinícius de Carvalho Soares de Paula  
UTFPR-CT

---

Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz (orientador)  
UTFPR-CT

---

Profa. Dra. Adriane Martins de Freitas (coorientador)  
UTFPR

---

Prof. Dr. Luiz Marcos de Lira Faria  
(coordenador de curso)

Curitiba, 11 de julho de 2019.

## **AGRADECIMENTOS**

Obrigada UTFPR pela oportunidade de fazer o curso. Agradeço por me oferecer professores incríveis.

Ao Prof. Dr Marcus Vinicius de Liz e professora Adriane M. Freitas pela oportunidade e apoio na elaboração deste trabalho.

Ao professor Gustavo H. Couto e Vinícius C. S. Paula por aceitarem participar da banca de avaliação e pelas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Ao LAMEAA e ao LAMAQ, pela disponibilidade para utilização dos equipamentos para realização do projeto.

Ao CNPq e Capes pelo apoio financeiro para o projeto.

Ao laboratório de Ecotoxicologia, e também a Monike e Vinicius pelas dicas e auxílios.

À Graciele por toda ajuda e apoio, nos momentos de grande necessidade, que me ajudou a continuar nessa jornada.

À minha família, especialmente minha mãe e meu tio Anderson, pois sem eles não seria possível a realização deste curso.

Ao meu esposo, que foi compreensivo com os momentos em que permaneci distante, que sempre me apoiou e me motivou a não desistir. Obrigada por sua paciência e seu amor.

À todos os meus amigos do curso de graduação que compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos, sempre com o espírito colaborativo.

À todos que diretamente ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

## RESUMO

NAICO, Andressa Assunção. **Ecotoxicidade de acetona e etanol antes e após fotólise UVC e processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**. 44 f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2019.

Alguns estudos de degradação por processos oxidativos avançados usam solventes orgânicos para solubilizar compostos pouco solúveis em meio aquoso, sem avaliar possíveis efeitos tóxicos dos subprodutos destes. A utilização de solventes orgânicos para este fim é um método bastante utilizado, porém sem analisar as possíveis interferências do mesmo. Este trabalho avaliou a toxicidade de soluções com acetona e etanol 0,2%(v/v), antes e após processos de fotólise e UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ensaio de degradação foram conduzidos em reator de bancada com capacidade de 600 mL, utilizando como fonte de radiação uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125W, desprovida de seu bulbo original e imersa na solução protegida por um bulbo de quartzo. Foram tomadas alíquotas da amostra, em tempos de até 8 h de exposição. No processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> usou-se 100 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com reinjeção quando necessário. A toxicidade aguda foi avaliada com sementes de *Lactuca sativa* (sementes de alface), *Daphnia magna* e larvas de *Aedes aegypti*. Nos ensaios com *Lactuca sativa* observou-se inibição do crescimento para a maioria dos tempos de degradação testados, com ambos os solventes. Resultados similares também foram observados nos testes com *Daphnia magna*. Nos testes com *Aedes aegypti*, para ambos os processos, antes e após tratamento, não se observaram indivíduos imóveis. Foi possível observar que ambos os solventes possuem toxicidade durante do tratamento, porém a acetona mostrou-se com menor interferência quando comparada ao etanol.

**Palavras-chave:** *A. aegypti*; *D. magna*; *L. sativa*; POA.

## ABSTRACT

NAICO, Andressa Assunção. **Ecotoxicity of acetone and ethanol after UVC photolysis and UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process.** 44 f. Trabalho de conclusão de curso. Bacharelado em Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2019.

Some advanced oxidative degradation studies use organic solvents to solubilize poorly soluble compounds in aqueous media, without assessing possible toxic effects of by-products of these. The use of organic solvents for this purpose is a widely used method, but without analyzing the possible interferences of the same. This work evaluated the toxicity of solutions with acetone and ethanol 0.2% (v/v), before and after photolysis and UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> processes. Degradation tests were conducted in a 600 mL capacity bench reactor, using as a radiation source a high pressure mercury vapor lamp of 125W, depleted of its original bulb and immersed in the solution protected by a quartz bulb. Aliquots of the sample were taken, in times of up to 8 h of exposure. In the UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process 100 mg L<sup>-1</sup> of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was used, with reinjection when necessary. Acute toxicity was evaluated with seeds of *Lactuca sativa* (lettuce seeds), *Daphnia magna* and *Aedes aegypti* larvae. In the *Lactuca sativa* assays growth inhibition was observed for most of the degradation times tested, with both solvents. Similar results were also observed in the *Daphnia magna* tests. In the *Aedes aegypti* tests, for both processes, before and after treatment, no immobile individuals were observed. It was possible to observe that both solvents have toxicity during the treatment, but the acetone showed less interference when compared to the ethanol

**Keywords:** *A. aegypti*; *D. magna*; *L. sativa*; AOPs.

## LISTA DE FIGURAS, TABELAS E QUADROS

Figura 1. Vias de transformação dominantes entre os principais intermediários para a degradação da acetona durante o processo UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Linhas sólidas representam reações geradas pelo gerador de vias. Linhas tracejadas são intermediários chave. ....	19
Figura 2. Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por fotólise. ....	15
Figura 3. Representação do reator a ser utilizado nos processos de degradação. ....	25
Tabela 1. Fitotoxicidade de soluções de acetona e etanol (0,2%) antes e após fotólise em <i>Lactuca sativa</i> . ....	29
Tabela 2. Fitotoxicidade de soluções de acetona e etanol (0,2%) antes e após UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> em <i>Lactuca sativa</i> . ....	31
Tabela 3. Média de indivíduos imóveis de <i>Daphnia magna</i> , para os processos fotólise e UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> para acetona e etanol 0,2%. ....	32
Quadro 1. Estudos agudos de solventes recomendados pela OCDE (incluindo solventes relacionados) com organismos aquáticos. ....	20

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AOP	Processos Oxidativos Avançados (do inglês <i>Advanced Oxidation Processes</i> )
BOD	<i>Biochemical Oxygen Demand</i>
CL50	Concentração Letal cinquenta
CPF	Clorpirifós
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FID	Detector de ionização de chama
GC	Cromatógrafo a gás
IPA	Álcool isopropílico
ISO	International Organization for Standardization
LPUV	Lâmpada de baixa pressão de vapor de mercúrio
MTBE	Methyl tertiary butyl ether
MPUV	Lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão
NBR	Norma Brasileira
OECD	Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Económico
OMS	Organização mundial da saúde (do inglês <i>World Health Organization</i> )
TLm	Limite de Tolerância
UV-Vis	Ultravioleta-visível



## LISTA DE SÍMBOLOS

° C	Grau Celsius
cm	Centímetro
h	Hora
L	Litro
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
μM	Micro mol
nm	Nanômetros
pH	Potencial Hidrogeniônico
V	Volts
W	Watts

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	13
2.1	Objetivo Geral .....	13
2.2	Objetivos específicos .....	13
3	REFERENCIAL TEÓRICO .....	14
3.1	Processos Avançados de Oxidação (AOPs).....	14
3.1.1	Fotólise .....	14
3.1.2	Processo UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	15
3.1.3	Processos Avançados de Oxidação aplicado à solventes.....	16
3.2	Bioensaios.....	19
3.2.1	Fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> .....	22
3.2.2	Ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .....	22
3.2.3	Atividade larvica em <i>Aedes aegypti</i> .....	23
4	METODOLOGIA .....	24
4.1	Reagentes e insumos.....	24
4.2	Ensaio de degradação.....	24
4.2.1	Determinação da concentração residual de peróxido de hidrogênio .....	25
4.3	Bioensaios.....	26
4.3.1	Fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> .....	26
4.3.2	Ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .....	27
4.3.3	Atividade larvica em <i>Aedes aegypti</i> .....	27
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
5.1.1	Fitotoxicidade com <i>Lactuca sativa</i> .....	29
5.1.2	Ecotoxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> .....	32
5.1.3	Atividade larvica em <i>Aedes aegypti</i> .....	34

6 CONCLUSÕES .....	35
REFERÊNCIAS.....	36

## 1 INTRODUÇÃO

Os Processos Avançados de Oxidação (AOPs, do inglês *Advanced Oxidation Processes*) se caracterizam por transformar a grande maioria dos contaminantes orgânicos em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos, através de reações de degradação que envolvem espécies transitórias oxidantes, principalmente radicais hidroxilas ( $\bullet\text{OH}$ ), que têm potencial de oxidação de 2,8 V. Os radicais hidroxilas podem ser gerados por meio de reações envolvendo oxidantes fortes, como ozônio e peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ); semicondutores, como dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ); e radiação ultravioleta (UV) (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

A associação de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e radiação ultravioleta na região UVC tem sido amplamente estudada e aplicada no tratamento e purificação de águas de abastecimento e de águas residuárias, permitindo a degradação de uma série de contaminantes. Já a fotólise, pode ocorrer pela absorção de radiação de forma direta pelo grupo cromóforo presente na estrutura do composto, no qual ocorre a formação de uma molécula excitada e essa pode passar por processos de degradação como homólise, heterólise ou fotoionização (REDDY; KIM, 2015; REMUCAL, 2014).

Os bioensaios podem avaliar o potencial tóxico de compostos como pesticidas, derivados do petróleo, detergentes, metais sobre os organismos, entre outros, uma vez que apenas “instrumentos biológicos” são capazes de integrar os vários efeitos complexos de um mistura de poluentes que podem interferir em processos fisiológicos, bioquímicos, celulares, morfológicos e genéticos (COSTA; ESPÍNDOLA, 2000). Segundo Mozeto e Zagatto (2006), os químicos mais testados dentro da ecotoxicologia normalmente são compostos apolares que após alcançarem a coluna d’água podem ser incorporados ao material particulado e depositados no sedimento ou ainda permanecerem indisponíveis na coluna d’água, entrando, portanto, em contato com os organismos aquáticos.

Contudo, há certa dificuldade na avaliação da toxicidade de amostras pré e pós tratamento via Processos Oxidativos Avançados, uma vez que a natureza hidrofóbica de determinadas substâncias (Ex.:organofosforados e hidrocarbonetos) não permite uma completa dissolução em meio aquoso. Dessa forma, torna-se necessário o uso de solventes orgânicos. Todavia, é preciso conhecer e avaliar

previamente a toxicidade dos solventes que serão utilizados nas degradações para que não interfiram em bioensaios com amostras de interesse, por esse motivo, este trabalho teve o objetivo de avaliar a toxicidade aguda de soluções de acetona e etanol 0,2%(v/v) (separadamente), antes e após processos de fotólise e UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade aguda dos solventes acetona e etanol antes e após fotólise UVC e processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 2.2 Objetivos específicos

- Submeter soluções de acetona e etanol (0,2%) à fotólise UVC e processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;
- Avaliar a toxicidade aguda de soluções de acetona e etanol (0,2%), antes e após tratamento, através de ensaios com *Lactuca sativa*, *Daphnia magna* e *Aedes aegypti*;
- Comparar as respostas de cada organismo-teste em relação a acetona e etanol 0,2%.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Processos Avançados de Oxidação (AOPs)

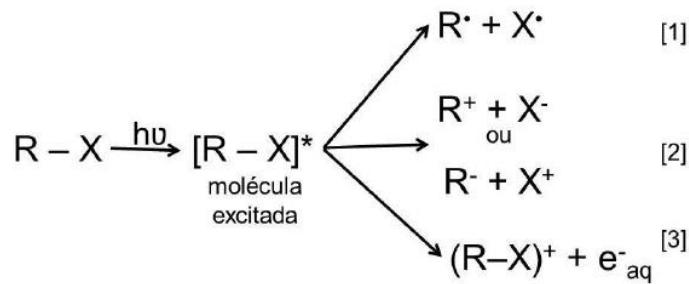
Os processos avançados de oxidação (AOPs) têm um potencial considerável para se tornarem possíveis alternativas para remediar as águas contaminadas. Os AOPs são baseados na geração e reações subsequentes de radicais hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ). Estes são agentes oxidantes poderosos de curta duração. Os radicais  $\cdot\text{OH}$  são produzidos *in situ* por meio de reações químicas, eletroquímicas e / ou fotoquímicas em sistemas AOP (SAMET; HMANI; ABDELHÉDI, 2012).

Os processos avançados de oxidação podem ocorrer em dois principais meios: homogêneo e heterogêneo. Em meio homogêneo há o uso de geradores de radicais livres, tais como peróxido de hidrogênio, ozônio, sulfato ferroso, etc. Em meio heterogêneo há a predominância do uso de semicondutores como o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) (RIBEIRO *et al.*, 2015).

##### 3.1.1 Fotólise

Em processos avançados de oxidação há trabalhos que avaliam a degradação de analitos de interesse através da fotólise direta, como Peixoto (2013) que utilizou para a degradação do herbicida amicarbazona e Aranha e Ribeiro (2016), para o glifosato. A fotólise pode ocorrer pela absorção de radiação de forma direta pelo grupo cromóforo presente na estrutura do composto. Ocorre a formação de uma molécula excitada e essa pode passar por processos de degradação como homólise [1], heterólise [2] ou fotoionização [3] (Figura 1) (REDDY e KIM, 2015; REMUCAL, 2014).

Figura 1. Mecanismos de degradação de compostos orgânicos por fotólise.



Fonte: Adaptado de Reddy e Kim, 2015.

A formação de subprodutos que não absorvem o comprimento de onda da radiação fornecida impede que ocorra a mineralização dos compostos submetidos à fotólise (REDDY e KIM, 2015).

Já a absorção de forma indireta ocorre quando uma molécula fotossensível absorve a radiação, ativa a molécula do composto orgânico e então ele passa pelos processos homólise [1], heterólise [2] ou fotoionização [3] como na fotólise direta (REDDY e KIM, 2015; REMUCAL, 2014).

### 3.1.2 Processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

A associação de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e radiação ultravioleta na região UVC tem sido amplamente estudada e aplicada no tratamento e purificação de águas de abastecimento e de águas residuárias, permitindo a degradação de uma série de contaminantes. Dentre os contaminantes estudados utilizando o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> podem-se citar: pesticidas e herbicidas, fármacos, aditivos para gasolina como o MTBE (*methyl tertiary butyl ether*), corantes têxteis, entre outros. O processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ainda apresenta a vantagem adicional da não formação de lodo durante o tratamento, podendo também alcançar a mineralização dos compostos orgânicos (NAGEL-HASSEMER, 2012).

O mecanismo caracteriza-se pela clivagem homolítica de uma molécula de peróxido de hidrogênio, formando dois radicais hidroxila, conforme Equação (1). Devido ao alto poder de oxidação do radical hidroxila gerado, a matéria orgânica é oxidada gerando mais radicais orgânicos (Equação 2), os quais podem formar novamente radicais hidroxila (Equação 3) ou prosseguir com as reações até que



haja a mineralização da matéria orgânica em CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e íons inorgânicos (MARTINS, 2013).



Para Nagel-Hassemer (2012), em comparação com outros AOPs, tais como Fenton, ozônio, UV/O<sub>3</sub>, UV/TiO<sub>2</sub>, etc., a fotólise de peróxido de hidrogênio apresenta algumas vantagens como a completa miscibilidade com água, estabilidade e disponibilidade comercial.

Oliveira (2011) estudou o uso da fotólise para a degradação do clorpirifós comparada ao UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e somente a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Foram realizados estudos dos parâmetros temperatura, pH, concentração do agrotóxico e efeito inibitório de ânions. Observou que a temperatura de 45 °C propiciou melhor degradação do composto na fotólise. Demais parâmetros foram utilizados para avaliação dos demais processos.

Pereira (2011) utilizou o processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no estudo da degradação da atrazina (ATZ), um herbicida, em diferentes concentrações e matrizes, e foi avaliada também a atividade estrogênica. Em água ultrapura (20 mg L<sup>-1</sup>) obteve-se uma remoção superior a 95%. Para concentrações de 0,5 e 20 mg L<sup>-1</sup> em água ultrapura a remoção foi superior a 98%.

### 3.1.3 Processos Avançados de Oxidação aplicado à solventes

Hernandez et al. (2002) estudaram três processos para tratamento de água contaminada com acetona. Os processos foram: UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, utilizando lâmpada de vapor de mercúrio de média pressão (MPUV); UV/ozônio (UV/O<sub>3</sub>), utilizando lâmpada de baixa pressão de vapor de mercúrio (LPUV), e Peroxona (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>). O processo LPUV/O<sub>3</sub> foi o mais eficiente para a degradação de acetona dos três AOPs estudados. Este processo removeu 99,0% da acetona em menos de 30 min.

Os estudos realizados no processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> demonstraram que existe uma concentração ótima de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e O<sub>3</sub> que aumenta a formação do radical hidroxila. Foi

observado que o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio usando uma concentração constante de ozônio no gás aspergido melhorou a degradação total da acetona até certo ponto. De forma análoga ao sistema MPUV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, doses excessivas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, como as maiores que 100 ppm, afetam negativamente a remoção de acetona. Uma dose de 10 ppm de peróxido de hidrogênio adicionada semicontinuamente, combinada com 2% de aspersão de ozônio, produziu a taxa mais elevada e a degradação da acetona para os sistemas de peroxona testados durante este estudo. Este sistema removeu mais de 99% da acetona em 60 min (HERNANDEZ et al., 2002).

Kamath e Minakata (2018) investigaram o AOPs com cloro livre em fase aquosa através de simulações cinéticas e validações experimentais da acetona. Após o início do experimento, as soluções foram amostradas em diferentes intervalos de tempo. Todas as análises químicas para medir a acetona e os subprodutos de transformação foram realizadas dentro de 24 h do experimento. A acetona foi medida usando injeção aquosa direta em um cromatógrafo a gás (GC) equipado com um detector de ionização de chama (FID). Enquanto o cloro livre foi completamente consumido após 60 min de irradiação UV, apenas 53,6% da acetona foi degradada. A degradação da acetona cessou após a fotólise completa do cloro livre e não foi observada degradação adicional. Isto indica que a degradação da acetona ocorreu através da acetona reagindo diretamente com o cloro livre e / ou a fotólise causada pelo cloro livre.

Wu et al. (2008) estudaram alguns AOPs para decomposição do álcool isopropílico (IPA). Foram utilizados os processos O<sub>3</sub>, O<sub>3</sub>/UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>/UV em diversas condições físico-químicas. Foi observada que a degradação IPA gera, como principal intermediário de degradação, a acetona. A degradação completa de IPA foi observada em POAs, enquanto a decomposição completa de acetona não foi observada nas condições experimentais. O processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi considerado o menos eficiente e o UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> foi o processo mais eficiente comparado a todos os outros AOPs selecionados.

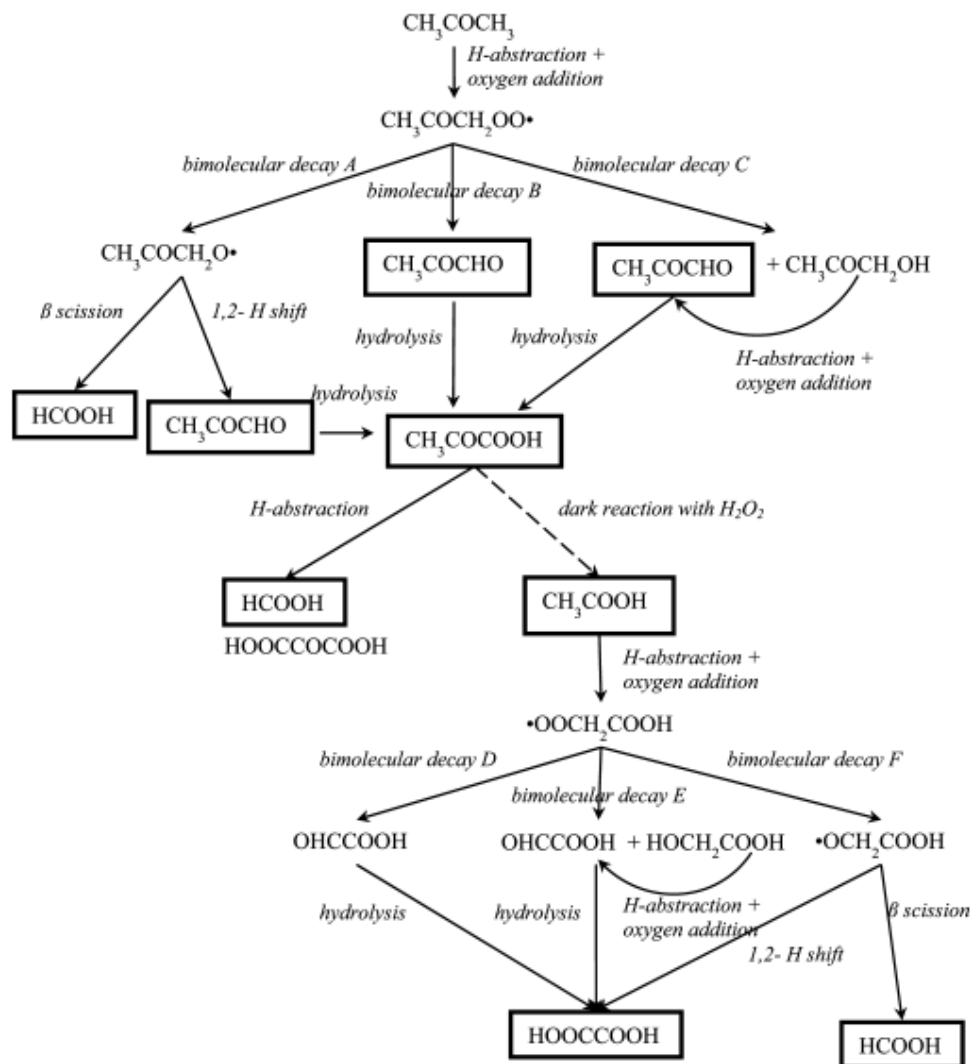
Já Kim et al. (2014) desenvolveram um reator assistido por TiO<sub>2</sub> que melhorou a penetração da luz UV na solução durante a decomposição fotocatalítica do IPA. O aumento da penetração de UV aumentou a diminuição na concentração de acetona. No entanto, isso não afetou a diminuição da concentração de IPA. O carregamento

da solução com microbolhas de  $O_3$  aumentou significativamente a mineralização durante as primeiras 5 h da reação.

Choi, Jeong e Chung (2013) descrevem uma nova tecnologia para a reutilização de águas residuais eletrônicas pelo processo avançado de oxidação (AOP) usando um catalisador imobilizado com Fe/Al. O catalisador de metal na AOP melhorou a oxidação de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como acetona e álcool isopropílico, em águas residuais eletrônicas. A eficiência de remoção de acetona e álcool isopropílico foi de 78,5% e 99,9%, respectivamente.

Guo et al. (2014) estudaram um modelo cinético baseado em computador, desenvolvido para prever os mecanismos de degradação e destino de intermediários e subprodutos produzidos durante processos de oxidação avançada em fase aquosa. Para isso, utilizaram degradação da acetona por processo UVC/ $H_2O_2$  e validaram com observações experimentais. De acordo com o estudo de Stefan et al. (1999), cinco espécies, incluindo aldeído pirúvico, ácido pirúvico, ácido acético, ácido oxálico e ácido fórmico, foram identificadas e quantificadas como principais intermediários que contribuem significativamente para a degradação total da acetona. Com o modelo cinético de baseado em computador, foram capazes de elucidar quantitativamente as vias de transformação dominantes entre esses principais intermediários, como mostrado na Figura 1.

Figura 2. Vias de transformação dominantes entre os principais intermediários para a degradação da acetona durante o processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Linhas sólidas representam reações geradas pelo gerador de vias. Linhas tracejadas são intermediários chave.



Fonte: Guo et al., 2014.

### 3.2 Bioensaios

Bioensaios são ferramentas de avaliação que auxiliam na determinação do efeito de agentes físicos e químicos sob organismos testes. Os efeitos destas substâncias podem variar desde mortalidade até alterações fisiológicas dependendo das características químicas da substância, concentração, tempo e frequência de exposição, do organismo e da fase do ciclo de vida do organismo submetido aos testes (GARDUÑO *et al.*, 2016; RIZZO, 2011).

Deve-se levar em conta que um único organismo não é capaz de demonstrar todos os efeitos de uma substância, é preciso que se utilizem espécies com funções ecológicas relevantes, chamadas espécies modelo (MORALES et al., 2004).

Os ensaios de ecotoxicidade empregados para avaliar a qualidade ambiental representam uma alternativa para complementar as análises químicas (RODRIGUES et al., 2013). Os bioensaios podem auxiliar na avaliação da eficiência de um processo de tratamento, pois nem sempre quando um AOP é aplicado a um efluente a mineralização completa é alcançada, pois pode haver a formação de subprodutos (DERBALAH, ISMAIL E SHAHEEN, 2013; MORALES et al., 2004).

Através das pesquisas realizadas na literatura, poucos trabalhos estudam a ecotoxicidade de solventes durante e após o tratamento através dos métodos que serão utilizados. Normalmente encontram-se somente dos solventes puros, como citados no Quadro 1.

Chen, Wang e Wu (2011) examinaram os efeitos do etanol e do DMSO no desenvolvimento e na atividade locomotora em larvas de embriões de peixe-zebra. Os peixes-zebra foram expostos a diferentes concentrações (controle, 0,01, 0,1 e 1%) de etanol ou DMSO do estágio de blástula a 144 h após a fertilização (hpf). Nenhum efeito na sobrevivência foi observado, exceto o grupo etanol 1% sofreu 89% de mortalidade durante 108-120 hpf. Não foram observados defeitos de desenvolvimento em nenhum dos solventes nas concentrações de 0,01 e 0,1%, mas ocorreram taxas de deformidade significativamente maiores com os grupos 1% de etanol e DMSO.

Outros estudos de testes agudos realizados para a acetona e etanol (sem tratamento) estão resumidos no Quadro 1.

**Quadro 1. Estudos agudos de solventes recomendados pela OCDE (incluindo solventes relacionados) com organismos aquáticos**

Solvente	Espécies de teste	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Tempo (h)	Parâmetro	Referência
Acetona	<i>Daphnia magna</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Gammarus fasciatus</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Asellus intermedius</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Dugesia tigrina</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Lumbriculus variegates</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)

Solvente	Espécies de teste	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Tempo (h)	Parâmetro	Referência
Acetona	<i>Hemisoma trivolvis</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Pimephales promelas</i>	>100	96	CL <sub>50</sub>	Ewell et al. (1986)
	<i>Daphnia magna</i>	31000	48	CL <sub>50</sub>	LeBlanc and Suprenant (1983)
	<i>Daphnia pulex</i>	15000	3	TLm	Nishiuchi (1981)
	<i>Cyprinus carpio</i>	19000	48	TLm	Nishiuchi (1981)
	<i>Platynereis dumerilii</i>	16900	96	CL <sub>50</sub>	Palau-Casellas and Hutchinson (1998)
	<i>Palaemonetes pugio</i>	6780	96	CL <sub>50</sub>	Rayburn and Fisher (1997)
	<i>Palaemonetes pugio</i>	6940	12	CL <sub>50</sub>	Rayburn and Fisher (1997)
	<i>Lepomis macrochiris</i>	8300	96	CL <sub>50</sub>	Smith (1974)
	<i>Gambusia affinis</i>	11060	96	CL <sub>50</sub>	Hunsinger and Howell (1991)
	<i>Carassius auratus</i>	26400	48	TLm	Ball (1966)
Etanol	<i>Daphnia magna</i>	9248	48	CL <sub>50</sub>	Cowgill and Milazzo (1991)
	<i>Daphnia magna</i>	12340	48	CL <sub>50</sub>	Takahashi et al. (1987)
	<i>Daphnia pulex</i>	2300	3	TLm	Nishiuchi (1981)
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	8808	48	CL <sub>50</sub>	Cowgill and Milazzo (1991)
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	6942	48	CL <sub>50</sub>	Takahashi et al. (1987)
	<i>Cyprinus carpio</i>	19000	48	TLm	Nishiuchi (1981)
	<i>Semotilus atromaculatus</i>	>7000	24	CL <sub>50</sub>	Smith (1974)
	<i>Palaemonetes pugio</i>	12070	96	CL <sub>50</sub>	Rayburn and Fisher (1997)

**Nota:** CL<sub>50</sub>: Concentração Letal cinquenta; TLm: Limite de Tolerância

**Fonte:** Adaptado de Hutchinson et al., 2006.

### 3.2.1 Fitotoxicidade com *Lactuca sativa*

Espécies vegetais para cultivo apresentam rápida germinação e crescimento das sementes, o que facilita a verificação dos efeitos de determinado contaminante, em um tempo reduzido (GVOZDENAC; INDIC; VUKOVIC, 2013).

Testes que utilizam plantas superiores são considerados eficientes para a avaliação e monitoramento da toxicidade de poluentes e têm sido utilizados em estudos sobre a fitotoxicidade de águas e sedimentos contaminados. Sua principal vantagem é a ampla variedade de parâmetros de toxicidade, como a taxa de germinação, ganho de biomassa, alongamento de raízes e aspectos bioquímicos, além de apresentar baixo custo e possibilidade de serem realizados continuamente. *Lactuca sativa* está entre os organismos-teste mais utilizados para avaliar a fitotoxicidade e citogenotoxicidade de efluentes domésticos e industriais. (RODRIGUES et al., 2013).

### 3.2.2 Ecotoxicidade aguda com *Daphnia magna*

Várias espécies do gênero *Daphnia* são utilizadas em testes de toxicidade, mas, a espécie mais utilizada é a *Daphnia magna*, para a qual existe um grande número de informação sobre as técnicas de cultivo, os requisitos de temperatura, luz e nutrientes e sobre sua resposta a muitas substâncias tóxicas. *Daphnia* sp. é um microcrustáceo de água doce, pertencente a ordem Cladocera. As espécies do gênero *Daphnia* são encontradas facilmente em regiões tropicais e até mesmo árticas, existindo em torno de 50 espécies (FAO, 1996).

Testes com *Daphnia* sp. são normalizados e padronizados internacionalmente pela OECD (Teste nº 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilization Test, 2004) e pela ISO (ISO 6341:2012 - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test) e no Brasil pela NBR 12.713 (ABNT, 2016).

Bownik (2019) determinou os efeitos do DMSO na frequência de saltos, velocidade de natação, frequência cardíaca, atividade do membro torácico, atividade

de catalase e nível de NOx em *Daphnia magna* submetidos a 0,1% e 1% de DMSO. Os resultados mostraram que a velocidade de natação, a frequência cardíaca e a atividade do membro torácico foram inibidas por 0,1% e 1% de DMSO.

Leoni, Bettinetti e Galassi (2008) estudaram os efeitos sub-letais da acetona na *Daphnia magna*. Neste estudo, a acetona foi testada em um experimento de 21 dias de exposição e os efeitos na mortalidade, fertilidade e morfologia dos organismos expostos (F<sub>0</sub>) e da prole (F<sub>1</sub>-F<sub>2</sub>, criados sem acetona) foram avaliados. Não foi observada redução significativa da sobrevivência com concentrações crescentes, e nenhuma redução significativa na fecundidade em qualquer grupo de tratamento em termos de número médio de dafnídeos por mãe foi observada. Desenvolvimento anormal de segunda antena foi observado em F<sub>1</sub> a partir de F<sub>0</sub> exposto a 79 mg L<sup>-1</sup> de solvente. Os resultados sugerem que a concentração de acetona não deve exceder 7,9 mgL<sup>-1</sup>, que é 10 vezes menor do que a concentração permitida, conforme determinado pelos ensaios crônicos da OCDE em *D. magna*.

### 3.2.3 Atividade larvívica em *Aedes aegypti*

*Aedes aegypti*, pertencente à família Culicidae, é um inseto originário da África e atualmente encontrado nas áreas dos trópicos em todo o mundo. Este inseto é conhecido principalmente por ser o vetor da dengue, febre Chikungunya e vírus Zika (BOSIRE *et al.*, 2014).

O ciclo de vida do *A. aegypti* é caracterizado pelas fases de larva, pupa e inseto. No ciclo larval, a larva passa por quatro estágios (fase intermediária ou intervalo entre duas mudas da larva), seguida da pupa, ambos em meio aquático (BAR; ANDREW, 2013).

Não existem protocolos que normalizem ensaios com larvas para fim de bioensaios de ecotoxicidade, porém a OMS apresenta um protocolo com instruções para determinação da suscetibilidade ou resistência da larva do mosquito a inseticidas (OMS, 1981), sendo este documento referência para ensaios com larvas de mosquitos.



## **4 METODOLOGIA**

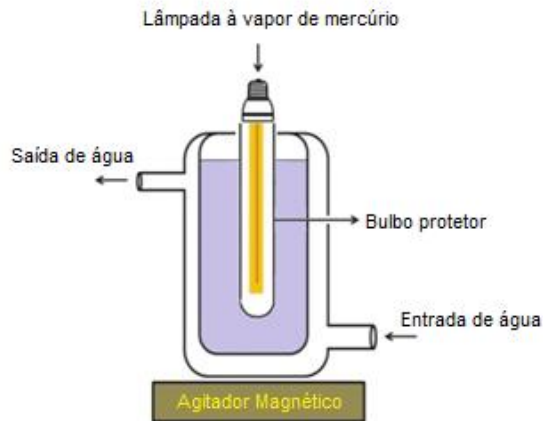
### **4.1 Reagentes e insumos**

Os reagentes utilizados neste trabalho foram: peróxido de hidrogênio 35% (Peróxidos do Brasil), catalase de fígado bovino 2000 – 5000 unidades  $\text{mg}^{-1}$  (Sigma-Aldrich) solução de concentração 1% (m/v) preparada em água de osmose, etanol absoluto P.A. 99,8% (Neon) e acetona grau HPLC (J.T. Baker). Água de osmose (sistema de osmose reversa Quimis). Para ajuste de pH foram usadas soluções de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e NaOH grau analítico.

### **4.2 Ensaio de degradação**

Os ensaios de degradação foram conduzidos em reator encamisado de vidro de bancada, com capacidade de 600 mL com refrigeração por água e agitação magnética (Fig. 3). Utilizou-se como fonte de radiação uma lâmpada de alta pressão de vapor de mercúrio de 125 W, imersa na solução protegida por um bulbo de quartzo. As soluções aquosas dos solventes utilizados foram de 0,2% (v/v), baseado em estudos anteriores do grupo de pesquisa (UTZIG, 2016).

**Figura 3. Representação do reator a ser utilizado nos processos de degradação.**



Fonte: Adaptado de UTZIG, 2016.

Para os ensaios UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi estabelecida em 100 mg L<sup>-1</sup> (LOURES *et al.*, 2013) e pH foi o natural da solução (entre 5 e 6).

Os tempos de degradação, para ambos os processos, foram de 0 (sem tratamento), 30, 60, 90, 120, 240, 360 e 480 min. No final de cada tempo testado, em cada processo, o pH foi ajustado para 7 e, no caso do processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foi adicionado catalase bovina (Sigma-Aldrich, 1% m/v) para abatimento do peróxido de hidrogênio residual. Após a degradação, as amostras foram separadas para os bioensaios.

As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar – que foram previamente descontaminados em banho de ácido nítrico 10% e enxaguados em água de osmose – logo após o ensaio de degradação e mantidas em freezer até a realização dos bioensaios, não ultrapassando o prazo de 60 dias.

#### 4.2.1 Determinação da concentração residual de peróxido de hidrogênio

A concentração de peróxido de hidrogênio foi monitorada durante o processo através de espectrofotometria, onde utilizou-se o reagente Allper® (Peróxidos Brasil), no qual se baseia na formação do complexo peroxotitânico (titânio IV) a partir da reação entre oxalato de titânio e ácido sulfúrico, o qual absorve em comprimento de onda de 395 nm (BRANDHUBER e KORSHIN, 2009). A

quantificação foi feita por meio de calibração externa com a curva analítica, feita em triplicata (50 até 100 mg L<sup>-1</sup>, com coeficiente de correlação de 0,999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Varian – Cary 50 Bio), utilizando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Quando necessário, foi feita readição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para que a concentração voltasse à concentração inicial (100mg L<sup>-1</sup>).

### 4.3 Bioensaios

#### 4.3.1 Fitotoxicidade com *Lactuca sativa*

Os ensaios de fitotoxicidade das soluções pré e pós tratamento foram baseados na metodologia descrita por Sobrero e Ronco (2004) e Young *et al.* (2012). O teste consiste na disposição de 15 sementes em cada placa de Petri (10 cm de diâmetro), colocadas sobre um papel filtro (80 g m<sup>-2</sup>, Unifil), com adição de 4 mL de amostra. As placas foram seladas com filme plástico e incubadas a 20 ± 2 °C em incubadora do tipo BOD sem fotoperíodo, por 120 h. Como controle negativo utilizou-se água processada (osmose reversa) e como controle positivo, solução de glifosato comercial (48% m/v) a 3%. Todas as amostras assim como os controles foram feitas em triplicata (LIMA, 2017).

Após o período de exposição, o comprimento das radículas foi medido com régua (cm), com uma casa decimal.

Calculou-se as médias de comprimento de cada replicata, assim como o desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV). Os resultados foram avaliados através do índice de crescimento relativo (ICR), índice de germinação (IG), análise de variância (ANOVA), análise de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e teste de Dunnett (p<0,01) através do software BioEstat 5.0. O ICR e IG foram calculados conforme as equações 4 e 5 (GARCIA *et al.*, 2009), respectivamente:

$$\text{ICR} = \frac{\text{m\u00e9dia do comprimento das rad\u00edculas da amostra}}{\text{m\u00e9dia do comprimento das rad\u00edculas do controle negativo}} \quad (4)$$

$$\text{IG} = \frac{\text{m\u00e9dia da germina\u00e7\u00e3o de cada r\u00e9plica da amostra}}{\text{m\u00e9dia da germina\u00e7\u00e3o de cada r\u00e9plica do controle negativo}} \times 100 \quad (5)$$

Young *et al.* (2012), classificou, conforme o valor obtido para o ICR da amostra, do seguinte modo:

- inibi\u00e7\u00e3o do crescimento da rad\u00edcula (I):  $0 < \text{ICR} < 0,8$
- sem efeito significativo (SES):  $0,8 \leq \text{ICR} \leq 1,2$
- estimula\u00e7\u00e3o do crescimento da rad\u00edcula (E):  $\text{ICR} > 1,2$

#### 4.3.2 Ecotoxicidade aguda com *Daphnia magna*

Os ensaios de pr\u00e9 e p\u00f3s tratamento foram realizados seguindo a NBR 12713/2016 (ABNT, 2016). Dez organismos neonatos (2-26h) foram colocados em b\u00e9queres contendo 20 mL das amostras e/ou controles. Tamb\u00e9m foram realizados testes considerando a dilui\u00e7\u00e3o de 50%. Todas as amostras e controles foram testados em triplicata ( $n = 3$ ). O controle negativo foi feito com \u00e1gua de dilui\u00e7\u00e3o de *D. magna* (anexo A). As amostras foram incubadas a  $20 \pm 2$  °C e ap\u00f3s 24 e 48h contabilizou-se os organismos im\u00f3veis em cada frasco. Os resultados foram expressos em fun\u00e7\u00e3o da porcentagem de organismos im\u00f3veis.

#### 4.3.3 Atividade larvicida em *Aedes aegypti*

Os ensaios de pr\u00e9 e p\u00f3s tratamento foram realizados seguindo a metodologia para determina\u00e7\u00e3o da suscetibilidade ou resist\u00eancia da larva de mosquito a inseticidas, determinado pela OMS (WHO, 1981), com adapta\u00e7\u00f5es de Utzig *et al.* (2019).

Para a eclosão, ovos sadios de *A. aegypti* (cepa Rockefeller, cedido pelo LAFICAVE-FIOCRUZ) foram colocados em béquer com 500 mL de água mineral e mantidos a 28°C com fotoperíodo de 16h de luz e 8h de escuro em incubadora tipo BOD (Solab). Para alimentação das larvas utilizou-se ração para peixe (Alcom Basic® – MEP 200 Complex) (UTZIG et al., 2019).

Para os bioensaios, foram utilizadas larvas no 3º ou início do 4º estágio de desenvolvimento, cerca de 96h após eclosão dos ovos. Os bioensaios foram realizados em béqueres de 50 mL com 25 mL de solução e 20 organismos por réplica. O teste foi feito em quadruplicata (n= 4). O controle negativo foi feito com água de osmose. Todos os béqueres foram mantidos a 23 °C sem fotoperíodo em incubadora tipo BOD por 24 h (UTZIG et al., 2019).

Após 24 h de exposição das larvas às soluções, foi verificada a mortalidade das mesmas e o resultado obtido foi expresso em % de mortalidade.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1.1 Fitotoxicidade com *Lactuca sativa*

Com a medida do comprimento das radículas, após o período de 120 h, foi possível calcular o desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) e o índice de crescimento relativo (ICR), para cada solvente (Tab. 1 e 2). Além das análises de IG e ICR, a fim de confirmar a classificação pelo ICR, os valores obtidos foram submetidos ao teste de Dunnett ( $p < 0,01$ ). As amostras que não foram consideradas significativamente diferentes receberam letras iguais, representada nas Tabelas 1 e 2 juntamente com a análise de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

**Tabela 1. Fitotoxicidade de soluções de acetona e etanol (0,2%) antes e após fotólise em *Lactuca sativa*.**

Amostra	Acetona					Etanol				
	$C_{rad}$ (cm)	CV (%)	IG (%)	ICR	Efeito	$C_{rad}$ (cm)	CV (%)	IG (%)	ICR	Efeito
Controle negativo	$2,3 \pm 0,7^{a*}$	28,5	-	-	-	$2,6 \pm 0,6^{b*}$	25,4	-	-	-
0 min	$2,5 \pm 0,9^{a*}$	39,6	100	0,9	SES	$1,6 \pm 0,7^*$	46,4	100	0,7	I
30 min	$2,5 \pm 0,7^{a*}$	29,8	100	1,1	SES	$1,6 \pm 0,8^*$	48,1	100	0,7	I
60 min	$2,2 \pm 0,8^{a*}$	36,3	100	1,0	SES	$1,0 \pm 0,9$	86,5	100	0,4	I
90 min	$1,8 \pm 0,7^{a*}$	40,6	100	0,8	SES	$2,0 \pm 0,9^{b*}$	44,9	100	0,8	SES
120 min	$1,7 \pm 0,5^*$	28,2	100	0,8	I	$1,6 \pm 1,0$	66,2	100	0,6	I
240 min	$1,5 \pm 0,7^*$	40,6	100	0,7	I	$1,3 \pm 0,9$	75,5	100	0,5	I
360 min	$1,2 \pm 0,5^*$	40,8	100	0,5	I	$1,1 \pm 0,8$	76,4	100	0,4	I
480 min	$1,0 \pm 0,4^*$	40,5	100	0,5	I	$1,1 \pm 0,8$	76,6	100	0,4	I

**Nota:**  $C_{rad}$ : média do comprimento da radícula; CV: coeficiente de variação; IG: índice de germinação; ICR: índice de crescimento relativo; SES: sem efeito significativo; I: inibição; \*: amostra normal. n=3.

No caso da acetona, observa-se que antes do tratamento até o tempo de 90 min, não teve efeito significativo. No tempo de 120 min, teve um ICR de 0,8, assim como no tempo de 90 min, porém de acordo com a análise estatística, houve diferença significativa, sendo classificado como inibição, assim como os tempos superiores.

Wu et al. (2008) estudaram alguns AOPs para decomposição do álcool isopropílico (IPA). A acetona foi identificada como um intermediário primário de degradação do IPA, enquanto o ácido acético, ácido oxálico e ácido fórmico foram identificados como intermediários secundários em todos os AOPs. Possivelmente houve a formação desses compostos no estudo realizado, no qual pode ser a origem da toxicidade observada a partir de 120 min.

Já para o etanol, todos os tempos testados, exceto de 90 min, observou-se efeito inibitório. O tempo de 90 min também teve um ICR de 0,8, que de acordo com a análise estatística, não foi significativo.

Utzig et al. (2019) realizou testes com acetonitrila, tratadas por fotólise UVC por 180 minutos, em condições semelhantes de tratamento. Também foi observado efeito inibitório pelo solvente testado em ambos os processos após os tratamentos para sementes de alface.

Lima (2017) realizou um estudo dos solventes orgânicos acetonitrila, acetona e metanol, utilizando sementes de alface após tratamento do solvente por radiação UVC por 180 minutos. Os solventes acetonitrila e acetona na concentração de 0,2 % em solução aquosa, não submetidos a nenhum processo, não foram observados efeitos no crescimento das radículas. O mesmo não ocorreu para o metanol sendo o seu efeito classificado como inibitório. Esse efeito negativo do metanol em sementes já havia sido relatado por Waris et al. (2016) em que as sementes de *Triticum aestivum* L. (trigo) e *Zea mays* (milho) quando expostas ao extrato aquoso de *Camellia sinensis* (chá da Índia) tiveram uma redução na germinação e crescimento enquanto que no extrato metanólico a germinação foi totalmente suprimida, revelando o efeito inibitório do metanol. A acetonitrila e acetona após fotólise apresentaram um efeito não significativo, diferentemente do metanol. Assim como para o metanol, algo semelhante pode ter ocorrido para o etanol, resultando na inibição de quase todos os tempos testados.

**Tabela 2. Fitotoxicidade de soluções de acetona e etanol (0,2%) antes e após UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em *Lactuca sativa*.**

Amostra	Acetona					Etanol				
	C <sub>rad</sub> (cm)	CV (%)	IG (%)	ICR	Efeito	C <sub>rad</sub> (cm)	CV (%)	IG (%)	ICR	Efeito
Controle negativo	2,4 ± 0,8 <sup>c*</sup>	29,1	-	-	-	2,1 ± 0,7 <sup>d*</sup>	37,2	-	-	-
0 min	2,6 ± 0,8 <sup>c*</sup>	31,5	100	1,0	SES	1,2 ± 0,8	67,0	100	0,5	I
30 min	2,2 ± 0,6 <sup>c*</sup>	28,6	100	1,0	SES	2,0 ± 1,0 <sup>d*</sup>	51,5	100	0,9	SES
60 min	1,3 ± 0,5 <sup>*</sup>	36,4	100	0,5	I	0,9 ± 0,5 <sup>*</sup>	50,6	100	0,4	I
90 min	0,9 ± 0,3 <sup>*</sup>	32,4	100	0,4	I	0,6 ± 0,4 <sup>*</sup>	54,8	100	0,3	I
120 min	0,8 ± 0,3 <sup>*</sup>	37,3	100	0,3	I	0,6 ± 0,3 <sup>*</sup>	50,7	100	0,3	I
240 min	0,8 ± 0,3 <sup>*</sup>	34,6	100	0,3	I	0,6 ± 0,2 <sup>*</sup>	32,2	100	0,3	I
360 min	0,6 ± 0,2 <sup>*</sup>	34,6	100	0,2	I	0,5 ± 0,1	25,1	100	0,2	I
480 min	0,8 ± 0,3 <sup>*</sup>	40,0	98	0,3	I	0,4 ± 0,1	34,4	100	0,2	I

**Nota:** CV: coeficiente de variação; IG: índice de germinação; C<sub>rad</sub>: média do comprimento da radícula; ICR: índice de crescimento relativo; SES: sem efeito significativo; I: inibição; \*: amostra normal. n=3.

Para a acetona, observa-se que antes do tratamento até o tempo de 30 min, não teve efeito significativo. A partir de 60 min, observa-se uma queda no valor de ICR, resultando na inibição.

Guo et al. (2014) estudou os subprodutos da acetona formados durante o processo de UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Identificaram que aldeído pirúvico, ácido pirúvico, ácido acético, ácido oxálico e ácido fórmico, como principais intermediários que contribuem significativamente para a degradação total da acetona, ilustrada na Figura 1 citada anteriormente. No presente estudo, podem-se ter formado as espécies citadas, no qual conferiram a toxicidade observada.

Já para o etanol, todos os tempos testados, exceto de 30 min, semelhantemente a fotólise, observou-se efeito inibitório.

Utzig et al. (2019) também realizou testes com acetona, tratadas por processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 180 minutos, em condições semelhantes de tratamento. Também foi observado efeito inibitório após o tratamento.

Lima (2017) também realizou um estudo dos solventes orgânicos acetona, acetona e metanol, utilizando ensaios de *Lactuca sativa* após tratamento do solvente pelo processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 180 minutos. Os solventes acetona e metanol na



concentração de 0,2% em solução aquosa, não submetidos a nenhum processo, não foram observados efeitos no crescimento das radículas. O mesmo não ocorreu para o metanol sendo o seu efeito classificado como inibitório. Já após processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, os solventes indicaram um efeito negativo para o desenvolvimento das sementes de alface. Assim como para o metanol, algo semelhante pode ter ocorrido para o etanol, resultando na inibição de quase todos os tempos testados como na fotólise.

### 5.1.2 Ecotoxicidade aguda com *Daphnia magna*

Após as 48 h de exposição, foi possível calcular a média de organismos imóveis em cada tempo testado em cada processo com cada solvente, apresentados na Tabela 4. Nos testes realizados com diluição de 50%, com ambos os solventes e em ambos os processos, não foram observados organismos imóveis.

**Tabela 3. Média de indivíduos imóveis de *Daphnia magna*, para os processos fotólise e UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para acetona e etanol 0,2%.**

Tempo (min)	Indivíduos Imóveis (%)			
	ACETONA		ETANOL	
	Fotólise	UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Fotólise	UVC/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
0	100	100	90	100
30	0	3,3	6,7	93,3
60	53,3	50,0	100	100
90	33,3	43,3	80	100
120	93,3	3,3	100	100
240	100	93,3	86,7	100
360	100	96,7	100	100
480	100	0	93,3	100

n=3

Na fotólise com a acetona, inicialmente observou-se 100% de indivíduos imóveis, diminuindo para 0% (30 min), porém aumentando de 53,3 a 100% nos tempos posteriores a 30 min. Foi observado, a partir de 90 min, que a solução ficou

turvada e amarelada provavelmente causada pela formação de algum subproduto de degradação. No caso do UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sugere-se que os subprodutos formados durante o tratamento possuem diferentes níveis de toxicidade, sendo mais ou menos tóxicos que seu predecessor. Já com o etanol, inicialmente observou-se 90% de indivíduos imóveis, diminuindo para 6,7% (30 min), porém variando de 80 a 100% nos tempos posteriores a 30 min. No caso do UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de 0 a 30 min a imobilidade dos indivíduos variou de 100% para 93%, e, em tempos superiores, voltou para 100%.

Utzig (2016) também realizou testes agudos com *D. magna* para o solvente acetonitrila e metanol. O metanol apresentou toxicidade mesmo sem tratamento. Após fotólise UVC e processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, com ambos os solventes, foi observado efeito agudo, resultando em 100% de imobilidade dos organismos. Também foi realizado ensaios de genotoxicidade com *Danio rerio*, no qual o solvente tratado por processo UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> causou a mortalidade de todos os peixes expostos, indicando novamente que os efeitos tóxicos são provenientes da presença de subprodutos de degradação da acetonitrila.

Lima (2017) também observou toxicidade dos solventes orgânicos acetonitrila, acetona e metanol, utilizando ensaios de *D. magna* após tratamento do solvente por radiação UVC e pelos processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton por 180 minutos.

Slotkin et al. (2009) avaliaram os efeitos de diferentes graus de irradiação UVC de clorpirifós (CPF) avaliando a potencial neurotoxicidade dos produtos em células PC12, um modelo de neurodesenvolvimento derivado de feocromocitoma que recapitula os principais mecanismos e resultados do CPF nos efeitos sobre o cérebro em desenvolvimento *in vivo*. As células PC12 permitem a detecção de efeitos adversos no ciclo celular. No presente estudo, examinaram os efeitos da CPF antes e depois da fotólise em células PC12 indiferenciadas e diferenciadas em relação à síntese de DNA e aos índices de número de células e crescimento de neuritos. Também avaliaram a proteína total, que aumenta com o crescimento celular, e a proteína de membrana, que aumenta com a formação de neurites. Foram conduzidos experimentos de controle com metanol puro sob as mesmas condições de irradiação do CPF. A concentração final de metanol no meio de cultura variou de 16 a 47 mM (0,05 a 0,15%), e o mesmo veículo foi adicionado às culturas controle. Sem tratamento, o metanol não teve efeito sobre a proliferação, crescimento ou diferenciação de células PC12. Após a fotólise o metanol teve um

efeito inibitório menor e significativo que foi revelado na concentração mais alta, provavelmente representando a formação de produtos tóxicos tais como formaldeído e ácido fórmico. Como observado para o metanol, o mesmo pode ter ocorrido em relação ao etanol, o qual pode ser a origem da toxicidade observada durante a degradação nos testes com *D. magna* e *L. sativa*.

Wu et al. (2008) estudaram alguns AOPs para decomposição do álcool isopropílico (IPA). A acetona foi identificada como um intermediário primário de degradação do IPA, enquanto o ácido acético, ácido oxálico e ácido fórmico foram identificados como intermediários secundários em todos os AOPs. Possivelmente houve a formação desses compostos no estudo realizado, no qual pode ser a origem da toxicidade observada durante a degradação nos testes com *D. magna* e *L. sativa*.

### 5.1.3 Atividade larvívica em *Aedes aegypti*

Em ambos os processos, em todos os tempos testados, não se observaram indivíduos imóveis. Este teste apresenta resposta na presença de compostos organofosforados, como o malathion, usado para matar este tipo de larva. No caso dos compostos organofosforados, um dos motivos de resposta é devido ao fato de serem inibidores da enzima acetilcolinesterase. O modo de inibição enzimática é considerado irreversível, uma vez que a enzima acetilcolinesterase se torna fosforilada após a reação com organofosforados, impedindo a transmissão de impulsos nervosos em algumas fibras do sistema nervoso, a transmissão neuro-humoral do nervo motor estriado e na transmissão de algumas sinapses interneurais do sistema nervoso central (AZEVEDO; CHASIN, 2003; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

Uma vez que os solventes serão utilizados em outros trabalhos do grupo como solvente para auxiliar na dissolução de compostos organofosforados, os resultados desse projeto mostram que os efeitos futuros que possam ser observados em testes de tratamento do pesticida em presença de acetona ou etanol 0,2% nas condições testadas, não são provenientes do solvente ou de seus subprodutos formados durante o tratamento.

## 6 CONCLUSÕES

A utilização de solventes orgânicos para a dissolução de substâncias pouco solúveis é um método bastante utilizado que permite obter uma solução homogênea, sendo que o solvente funciona como um facilitador para a posterior dissolução do composto em meio aquoso. Porém, torna-se necessário um teste preliminar para certificar que esse solvente não interfira negativamente na toxicidade.

Observou-se para a acetona, no caso da fotólise, um comportamento semelhante em relação aos resultados para *Daphnia magna* e *Lactuca Sativa*, um aumento na toxicidade a partir de 120 min. O mesmo não foi observado para o UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Já para o etanol, o comportamento também é observado. Na fotólise, no tempo de 90 min, para *Lactuca Sativa* observa-se efeito não significativo e para *Daphnia magna*, no mesmo tempo, possui uma porcentagem menor de organismos imóveis quando comparado a tempos superiores. O mesmo se repete para UVC/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, porém no tempo de 30 min.

Através das análises realizadas, foi possível observar que ambos os solventes possuem toxicidade em decorrer do tratamento, porém a acetona mostrou-se com menor interferência quando comparado ao etanol, levando em consideração os resultados para *Daphnia magna* e *Lactuca Sativa*.

## REFERÊNCIAS

ABNT –ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática –toxicidade aguda –método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro, 2016.

ARANHA, C. F.; RIBEIRO, M. A. **Remoção de glifosato utilizando ozonização fotocatalítica com TiO<sub>2</sub>**. Trabalho de Conclusão de Curso II do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e Sanitária da Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2013.

AZEVEDO, F; CHASIN, A. **As bases toxicológicas da Ecotoxicologia**. Cap. 3, p.100. 1, ed. São Paulo: RiMa, 2003. São Paulo: Intertox, 2003.

BAR, A.; ANDREW, J. Morphology and Morphometry of *Aedes aegypti* Larvae. **Annual Review & Research in Biology**, v. 3, p. 1-21, 2013.

BOSIRE, C.; DEYOU, T.; KABARU, J.; KIMATA, D.; YENESEW, A. Larvicidal activities of the stem bark extract and rotenoids of *Millettia usaramensis* subspecies *usaramensis* on *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, p. 531-535, 2014.

BOWNIK, A. Effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* exposed to dimethyl sulfoxide. **Science of the Total Environment**, v. 683, p. 193–201, 2019.

BRANDHUBER, P. J.; KORSHIN, G. Methods for the detection of residual concentrations of hydrogen peroxide in advanced oxidation processes. Alexandria, VA. **WateReuse Foundation**, 2009.

CHEN, T.-H.; WANG, Y.-H.; WU, Y.-H. Developmental exposures to ethanol or dimethylsulfoxide at low concentrations alter locomotor activity in larval zebrafish: Implications for behavioral toxicity bioassays. **Aquatic Toxicology**, v. 102 p. 162–166, 2011.

Choi, J.; Jeong, J.-H.; Chung, J.. Degradation of acetone and isopropylalcohol in electronic wastewater using Fe- and Al-immobilized catalysts. **Chemical Engineering Journal**, v. 218, p. 260–266, 2013.

COSTA, J. B.; ESPÍNDOLA, E. L. G.. Avaliação ecotoxicológica da água e sedimento em tributários do reservatório de Barra Bonita (Médio Tietê Superior, SP). *In: ESPÍNDOLA, E.L.G.; Paschoal, C.M.R.B.; Rocha, O.; Bohrer, M.B.C.; Oliveira - Neto, A.L. (Editores). Ecotoxicologia-Perspectivas para o Século XXI*. Editora Rima, São Carlos, p. 75 – 93, 2000.

DERBALAH, A.; ISMAIL, A.; SHAHEEN, S. Monitoring of organophosphorus pesticides and remediation technologies of the frequently detected compound (chlorpyrifos) in drinking water. **Polish Journal of Chemical Technology**, 15, p. 25-34, 2013.

FAO: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. 1996.

FEMIA, J.; MARIANI, M.; ZALAZAR, C.; TISCORNIA, I. Photodegradation of chlorpyrifos in water by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment: toxicity evaluation. **Water Science & Technology**. 68, p. 2279-2286, 2013.

GARDUÑO, B. D.; MÁRQUEZ, J. J. R.; MANZANO, M. A.; PÉREZ, C. G.; DÍAZ, M. L. M. Are combined AOPs effective for toxicity reduction in receiving marine environment? Suitability of battery of bioassays for wastewater treatment plant (WWTP) effluent as an ecotoxicological assessment. **Marine Environmental Research**, 114, p. 1-11, 2016.

GARCIA, J. C.; SIMIONATO, J. I.; ALMEIDA, V. C.; PALÁCIO, S. M.; ROSSI, F. L.; SCHNEIDERB, M. V.; SOUZA, N. E.. Evolutive Follow-up of the Photocatalytic Degradation of Real Textile Effluents in TiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Systems and their Toxic Effects on *Lactuca sativa* Seedlings. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, N. 9, p. 1589-1597, 2009.

GUO, X.; MINAKATA, D.; NIU, J.; CRITTENDEN, J.. Computer-Based First-Principles Kinetic Modeling of Degradation Pathways and Byproduct Fates in Aqueous-Phase Advanced Oxidation Processes. **Environ. Sci. Technol**, v. 48, p. 5718–5725, 2014.

GVOZDENAC, S.; INDIC, D.; VUKOVIC, S. Phytotoxicity of Chlorpyrifos to White Mustard (*Sinapis alba* L.) and Maize (*Zea mays* L.): Potential Indicators of Insecticide Presence in Water. **Pesticides and phytomedicine**, v. 28, n. 4, p. 265-271, 2013.

HERNANDEZ, R.; ZAPPI, M.; COLUCCI, J.; JONES, R.. Comparing the performance of various advanced oxidation processes for treatment of acetone contaminated water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 92, p. 33–50, 2002.

HUTCHINSON, T. H.; SHILLABEER, N.; WINTER, M. J.; PICKFORD, D. B.. Acute and chronic effects of carrier solvents in aquatic organisms: A critical review. **Aquatic Toxicology**, v. 76, p. 69–92, 2006.

KAMATH, D.; MINAKATA, D.. Emerging investigators series: ultraviolet and free chlorine aqueous-phase advanced oxidation process: kinetic simulations and experimental validation. **Environmental Science: Water Research & Technology**, v. 4, p. 1231–1238, 2018.

KIM, K. H.; SEKIGUCHI, K.; YOSHIDA, T.; YASUI, F.; TAMURA, H.. Effective liquid-phase photocatalytic reaction using a newly developed titanium oxide-assisted reactor with ozone microbubble treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 126, p. 15–20, 2014.

LEONI, B.; BETTINETTI, R.; GALASSI, S.. Sub-lethal effects of acetone on *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**, v. 17, p. 199–205, 2008.

LIMA, R. M. **Avaliação da radiação UVC, processos UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e foto-Fenton na degradação do agrotóxico clorpirifós com acompanhamento da ecotoxicidade**. 2017. 93f. Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2017.

LOURES, C. C. A.; ALCÂNTARA, M.; FILHO, H.; TEIXEIRA, A.; SILVA, S.; PAIVA, T.; SAMANAMUD, G. Advanced Oxidative Degradation Processes: Fundamentals and Applications. **International Review of Chemical Engineering**, v.5, n.2, p. 102-120, 2013.

MARTINS, A. S. **Estudo e otimização da degradação dos herbicidas hexazinona e diuron utilizando processos oxidativos avançados (POA): H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV e foto-Fenton**. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

MORALES, G. C.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P.; RONCO, A.; SOBRERO, C.; ROSSINI, G. B.; FEOLA, G.; FORGET, G. et al. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. México, IMTA, 2004.

MOZETO, A. A., ZAGATTO, P. A.. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: Zagatto, P.A.; Bertolotti, E. **Ecotoxicologia Aquática Princípios e Aplicações**. São Carlos: RiMa Editora, 2006.

NAGEL-HASSEMER, Maria E.; CORAL, Lucila A.; LAPOLLI, Flávio R. Processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como pós-tratamento para remoção de cor e polimento final em efluentes têxteis, *Quim. Nova*, São Paulo, v. 35, n. 5, p. 900-904, 2012.

OGA, S.; CAMARGO, M. A.; BATISTUZZO, OLIVEIRA, J. A. **Fundamentos de Toxicologia**. 3.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2008.

OLIVEIRA, A. G. **Remoção do agrotóxico organofosforado clorpirifós usando processo oxidativo avançado**. 2011. 81f. Dissertação de Mestrado (Engenharia Civil – Saneamento Ambiental) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

PEIXOTO, A. L. C. **Degradação do herbicida amicarbazona por fotólise direta e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV em reator fotoquímico anular coaxial**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

PEREIRA, S. V. **Degradação da atrazina pelo processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e ozônio, identificação dos intermediários e avaliação da atividade estrogênica**. Tese de Doutorado (Engenharia Química, COPPE) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2011.

REDDY, P. V. L.; KIM, K. A review of photochemical approaches for the treatment of a wide range of pesticides. **Journal of Hazardous Materials**, 285, p. 325-335, 2015.

REMUCAL, C. K. The role of indirect photochemical degradation in the environmental fate of pesticides: a review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, 16, p. 628-653, 2014.

RIBEIRO, A. R.; NUNES, O. C.; PEREIRA, M. F. R.; SILVA, A. M. T. Na overview on the advanced oxidation processes for the treatment of water pollutants defined in the recently launched Directive 2013/39/EU. **Environment International**, 75, p. 33-51, 2015.

RIZZO, L. Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation process in water and wastewater treatment. **Water Research**, 45, p. 4311-4340, 2011.

RODRIGUES, L. C. A.; BARBOSA, S.; PAZIN, M.; MASELLI, B. S.; BEIJO, L. A.; KUMMROW, F. Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaios com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia e Agrícola e Ambiental**. V. 7, n. 10, p. 1099-1108, 2013.



SAMET, Y.; HMANI, E.; ABDELHÉDI, R. Fenton and solar photo-Fenton processes for the removal of chlorpyrifos insecticide in wastewater. **Water SA**. v..38 n.4 Pretoria, 2012.

SLOTKIN, T. A.; SEIDLER, F. J.; WU, C.; MACKILLOP, E. A.; LINDEN, K. G. Ultraviolet Photolysis of Chlorpyrifos: Developmental Neurotoxicity Modeled in PC12 Cells. **Environmental Health Perspectives**. V. 117, n. 3, 2009.

SOBRERO, M. S.; RONCO, A. Ensayo de Toxicidad aguda con semillas de lechuga. Ensayos Toxicológicos y Métodos de Evaluación de Calidad del Agua: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. In: MORALES, G. C.; BÁEZ, M. C. D.; GRANADOS, Y. P.; RONCO, A.; SOBRERO, C.; ROSSINI, G. B.; FEOLA, G.; FORGET, G. et al. **Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones**. México, IMTA, p. 71-79, 2004.

STEFAN, M. I.; BOLTON, J. R.. Reinvestigation of the acetone degradation mechanism in dilute aqueous solution by the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process. **Environ. Sci. Technol**, v. 33, p. 870–873, 1999.

TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F.. **Processos Oxidativos Avançados: conceitos teóricos**. Campinas: LQA/IQ/UNICAMP, v. 3, p. 83, 2004.

UTZIG, L. M.; LIMA, R. M.; GOMES, M. F.; RAMSDORF, W. A.; MARTINS, L. R. R.; LIZ M. V.; FREITAS, A. M.. Ecotoxicity response of chlorpyrifos in *Aedes aegypti* larvae and *Lactuca sativa* seeds after UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and UVC oxidation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 449–456, 2019.

UTZIG, L. M.. **Avaliação da fitotoxicidade, ecotoxicidade e genotoxicidade de clorpirifós após tratamento por radiação UVC e processo UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**. 2016. 129f. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

WARIS, A.; WARIS, L.; KHAN, M. A.; SHAD, A. A. Allelopathic effect of methanol and water extracts of *Camellia sinensis* L. on seed germination and growth of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L.. **Journal of Bioresource Management**, 3, 2016.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. 1981.

WU, J. J.; YANG, J. S.; MURUGANANDHAM, M.; WU, C. C.. The oxidation study of 2-propanol using ozone-based advanced oxidation processes. **Separation and Purification Technology**, v. 62, p. 39–46, 2008.

YOUNG, B. J.; RIERA, N. I.; BEILY, M. E.; BRES, P. A.; CRESPO, D. C.; RONCO, A. E. Toxicity of the effluent from a anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 76, p. 182-186, 2012.

## ANEXO A – Composição da água de diluição de *Daphnia magna*

### Soluções para o preparo da água de diluição

Reagente	Quantidade
Solução 1 do meio de cultivo	3,2 mL para 1000 mL de solução
Solução 2 do meio de cultivo	0,8 mL para 1000 mL de solução
Solução 3 do meio de cultivo	0,8 mL para 1000 mL de solução
Solução 4 do meio de cultivo	0,8 mL para 1000 mL de solução

### Preparo da água de diluição

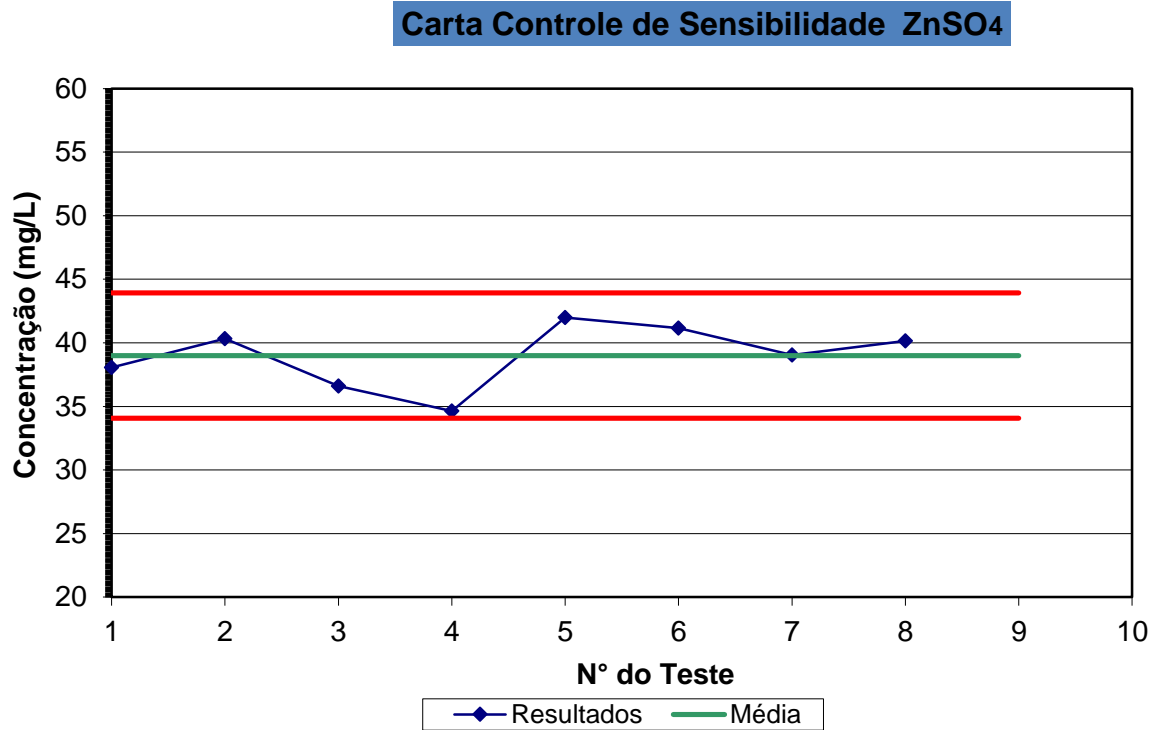
Para o preparo de 1000 mL de água de diluição utilizar os volumes das soluções 1 a 4 descritos acima e completar com água destilada. A solução deve ser aerada por pelo menos 12 h antes da utilização. O pH da água deve estar entre 7,6 e 8,0.

### Soluções para o preparo do meio de cultivo\*

Solução	Reagente	Quantidade (mg)	Preparo
1	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	73500	Dissolver e diluir a 1000 mL com água processada
2	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	123300	
3	KCl	5800	
4	NaHCO <sub>3</sub>	64800	

\*Descritas pela ABNT NBR 12713:2009

## ANEXO B – Carta controle de sensibilidade para *Daphnia magna*



Nº Lote	Nº Teste	Data	Concentração (mg/L)
1	1	16/02/2018	38,06
	2	09/05/2018	40,32
	3	24/05/2018	36,61
	4	08/08/2018	34,63
	5	19/08/2018	42,00
	6	15/08/2018	41,17
	7	16/08/2018	39,04
	8	29/08/2018	40,16