INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TOCANTINS - *CAMPUS* ARAGUATINS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ANTONIO MARCOS LOPES DOS SANTOS

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO PERACÉTICO E CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO UTILIZANDO OS BIOINDICADORES *Elsenia andrei* E *Phaseolus vulgaris*

ARAGUATINS
2023

ANTONIO MARCOS LOPES DOS SANTOS

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO PERACÉTICO E CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO UTILIZANDO OS BIOINDICADORES *Elsenia andrei* E *Phaseolus vulgaris*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à coordenação do Curso Superior de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins - *Campus* Araguatins, como exigência à obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.
Orientadora: Prof.ª Me. Luana Priscilla Rodrigues Macedo.

ARAGUATINS
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecas do Instituto Federal do Tocantins

S237a Santos, Antonio Marcos Lopes Dos
Avaliação ecotoxicolológica comparativa entre ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de sódio utilizando os bioindicadores Elsenia andrei e Phaseolus vulgaris / Antonio Marcos Lopes Dos Santos. – Araguatins, TO, 2023.
43 p. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, Campus Araguatins, Araguatins, TO, 2023.

Orientadora: Ma. Luana Priscilla Rodrigues Macedo

1. Eisenia andrei. 2. Phaseolus vulgaris. 3. Análise ecotoxicológica. I. Macedo, Luana Priscilla Rodrigues. II. Título.

CDD 570

A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio, deste documento é autorizada para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.
Elaborado pelo sistema de geração automatica de ficha catalográfica do IFTO com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Ministério da Educação
Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins
Campus Araguatins

FOLHA DE APROVAÇÃO

TÍTULO: **AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO PERACÉTICO E CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO UTILIZANDO OS BIOINDICADORES *EISENIA ANDREI E PHASEOLUS VULGARIS.***

AUTORA: **Antonio Marcos Lopes dos Santos**
ORIENTADORA: **Luana Priscilla Rodrigues Macêdo.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, *Campus* Araguatins, como parte das exigências para a conclusão do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovado em 11 de dezembro de 2023.

Documento assinado eletronicamente por **Luana Priscilla Rodrigues Macedo, Servidora**, em 11/12/2023, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Tiago dos Reis Almeida, Servidor**, em 11/12/2023, às 16:28, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

Documento assinado eletronicamente por **Samuel de Deus da Silva, Servidor**, em 11/12/2023, às 16:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ifto.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2187924** e o código CRC **69A6A731**.

Dedico o resultado do esforço realizado durante este percurso a minha mãe, que tanto admiro.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela oportunidade de concluir esse curso, foram muitos obstáculos no caminho, mas, graças ao meu bom Deus veio a recompensa.

Agradeço aos meus professores do IFTO - *Campus* Araguatins, que foram os protagonistas nessa jornada de conhecimentos adquiridos. E a minha família, minha mãe Irismar Lopes dos Santos e as minhas irmãs, que foram as maiores incentivadoras e apoiadoras desta jornada.

Aos meus amigos e colegas de pesquisa que a faculdade me presenteou Yasmim, Karlos Daniel e Illgner Fonseca.

A minha querida orientadora Prof.ª Me Luana Priscila, pela disponibilidade e atenção na realização desse trabalho.

“Na natureza nada se cria, nada se perde, tudo se transforma”

Antoine-Laurent de Lavoisier.

RESUMO

A desinfecção é relevante para o controle da poluição microbiológica da água, uma vez que é responsável pela inativação ou morte de microrganismos patogênicos. Várias pesquisas detectaram a presença de agentes mutagênicos na água e nas águas residuárias, devido não apenas a fontes de poluição, mas também ao tratamento e a concentração dos compostos utilizados na desinfecção. Desse modo, ácido peracético (APA) e o cloro ativo foram avaliados em relação aos bioindicadores *E. andrei* e *P. Vulgaris* por serem utilizados no tratamento de água e águas residuárias. O bioensaio referentes á *E. andrei* foram Cl_{50}, número de casulos e reprodução. Para *P. Vulgaris* germinação e crescimento. Os resultados obtidos com as minhocas apresentaram que o cloro ativo foi mais tóxico com Cl_{50} após avaliação de 28 dias de 59,04 $mg.L^{-1}$ quando comparado com Cl_{50} do APA após o mesmo período de exposição que foi de 63,21 $mg.L^{-1}$. As exposições sub-letais ao cloro foram mais tóxicas nas minhocas, uma vez que houve diminuição significativa nos números de sobreviventes, do número de casulos, com redução de 68,42% e 94,74%, respectivamente, nas concentrações de 63 e 66 $mg.L^{-1}$. Em relação ao crescimento e germinação foram observadas diferenças significativas apenas na concentração 66 $mg.L^{-1}$, com uma redução de aproximadamente 95% quando exposto ao cloro ativo e em comparação ao grupo de controle. Já em relação ao APA não se teve efeito observado na avaliação *P. Vulgaris* nessas concentrações.

Palavras-chave: *Eisenia andrei*. *Phaseolus vulgaris*. Análise ecotoxicológica. Ácido peracético.

ABSTRACT

Disinfection is relevant for controlling microbiological water pollution, as it is responsible for the inactivation or death of pathogenic microorganisms. However, several studies have detected the presence of mutagens in water and wastewater, due not only to sources of pollution, but also to the treatment and concentration of compounds used in disinfection. Thus, peracetic acid (APA) and active chlorine were evaluated in relation to the bioindicators *E. andrei* and *P. Vulgaris* as they are used in the treatment of water and wastewater. The biassays referring to *E. andrei* were Cl_{50}, number of cocoons and reproduction. For *P. Vulgaris* germination and growth. The results obtained with earthworms showed that active chlorine was more toxic with Cl_{50} after 28 days evaluation of 59.04 $mg.L^{-1}$ when compared with Cl_{50} from APA after the same period of exposure which was 63.21 $mg.L^{-1}$. Sub-lethal exposures to chlorine were more toxic to earthworms, since there was a significant decrease in the number of survivors and the number of cocoons with a reduction of 68.42 % and 94.74 %, respectively, at concentrations of 63 and 66 $mg.L^{-1}$. In relation to growth and germination, a significant difference was observed only at the concentration of 66 mg. L^{-1}, with a reduction of approximately 95 % when exposed to active chlorine when compared to the control. Regarding APA, there was no effect observed on the *P. Vulgaris* evaluation at these concentrations.

Keywords: *Eisenia andrei*. *Phaseolus vulgaris.* Ecotoxicological analysis. peracetic acid.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Numero de casulos após exposição por 28 dias em concentrações de APA (A), e concentrações de cloro ativo (B). (* Denota uma diferença significativa comparada ao controle).....35

LISTA TABELAS

Tabela 1 – Valores do CL_{50} com minhocas no intervalo de confiança de 95%.....34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Obtenção do hipoclorito de sódio (NaClO). 19
Figura 2: A reação química do ácido peracético. 24
Figura 3: Reprodução das minhocas 27
Figura 4: Germinação do feijão.....30
Figura 5: Diferentes tipos de folhas da planta de feijão 31
Figura 6: Teste crônico da E. andrei e P.Vulgaris.....32

LISTA DE ABREVIAÇÕES E SIGLAS

APA - Ácido Peracético

DBPs - Subprodutos de desinfecção

EUA - Estados Unidos da América

HAAs - Ácidos Haloacéticos

HANs – Haloacetonitrilas

ISO - Organização Internacional de Padronização

NaClO - Hipoclorito de Sódio

NOEC - Maior Concentração de Efeito não Observado

NDMA -nitroso-dimetil-aminas

THMs – Trihalometano

MON - matéria orgânica natural

SÚMARIO

1. INTRODUÇÃO 14
2. REVISÃO DE LITERATURA 17
2.1 Avaliação de oxidantes para o tratamento de águas residuárias e seus impactos ecotoxicológicos para evitar riscos para o meio ambiente 18
2.1.1 Cloro 18
2.1.2 Hipoclorito de sódio 22
2.1.3 Ácido peracético 23
2.2 Ensaios ecotoxicológicos no monitoramento ambiental 24
2.3 Morfologia das minhocas 25
2.3.1 Estudos ecotoxicológicos utilizando minhoca 27
2.4 *Pheseolus vulgaris* 29
3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS 32
3.1 Análises em laboratório 32
3.2 Procedimento para análise de dados 33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 34
4.1 Efeito crônico *E. andrei* após a exposição ao APA e ao cloro ativo 34
4.1.1 Efeito da mortalidade 34
4.1.2 Efeito na reprodução de E. andrei após exposição ao APA e ao cloro ativo 35
4.2 Germinação e crescimento *P. Vulgaris* 36
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS 37
REFERÊNCIAS 38

1. INTRODUÇÃO

O processo de desinfecção é uma etapa relevante para o controle da poluição microbiológica da água, por ser uma barreira eficaz na inativação de microrganismos patogênicos. No entanto, muitas pesquisas detectaram a presença de agentes mutagênicos na água e nas águas residuárias, devido não apenas às fontes de poluição, mas também ao tratamento e a concentração dos compostos utilizados na desinfecção (REHENA *et al.,* 1996; CANTOR 1997; HOFER E SHUKES, 2000).

O cloro por apresentar um alto poder na inativação de microrganismos patogênicos é o mais utilizado no processo de desinfecção (JIANG *et al.,* 2018). E apesar de que o cloro exerce um papel de liderança na desinfecção de água potável e de águas residuárias devido ao seu elevado poder biocida, ele gera subprodutos tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (ROOK, 1974; CREBELLI *et al.,* 2003; SUN *et al.,* 2009; WU *et al.,* 2010; YANG *et al.,* 2013; WU *et al.,* 2013; DOEDERER *et al.,* 2014; LIU e ZHANG, 2014; DU *et al.,* 2017; XUE *et al.,* 2017; JIANG *et al.,* 2018, JIANG *et al.,* 2022).

Neste sentido, vários estudos na literatura buscam meios de utilizar desinfetantes alternativos, que além de eficazes na inativação de microrganismos patogênicos, sejam menos agressivos a saúde humana e aos ecossistemas aquáticos (DOMÍNGUEZ *et al.,* 2018). Sendo relevante destacar que resíduos clorados nos sistemas aquáticos dependem da quantidade de cloro adicionada, dos compostos presentes na água que vai passar pelo processo de desinfecção e da concentração de cloro residual remanescente na solução.

Por este motivo, processos de desinfecção alternativos aos compostos clorados são promissores, bem como o emprego de bioindicadores, com intuito de avaliar o tempo de exposição e as dosagens dos desinfetantes que são ambientalmente sustentáveis (XUE *et al.,* 2017).

Dentre os desinfetantes potencialmente indicados para substituir o cloro, tem-se o ácido peracético (APA), que é um desinfetante com um amplo espectro de atividade antimicrobiana, atuando como bactericida, virucida e fungicida. O APA produz menos impactos ambientais do que os desinfetantes, tais como $NaClO$, ClO_2, $Ca(ClO)_2$ em termos de formação de subprodutos de desinfecção e efeitos tóxicos, carcinogênicos, mutagênicos ou genotóxicos em diferentes organismos (DOMÍNGUEZ *et al.,* 2018).

Pode-se observar vários resultados promissores da utilização do APA na área de saneamento ambiental, todavia necessita-se de mais informações quanto ao seu efeito em concentrações residuais no ambiente (DOMÍNGUEZ *et al.,* 2018).

Os autores Souza e Daniel (2007) destacam quanto a viabilidade de formação de subprodutos gerados na desinfecção, o APA, é considerado como não carcinogênico por instituições internacionais como: Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) e o Programa de Toxicologia Nacional (NTP).

Assim, é necessário a realização de ensaios ecotoxicológicos para monitorar os efeitos das substâncias químicas no organismo-teste, observando os parâmetros característicos de cada bioindicador, podendo ser avaliado a resposta aguda (exposição a curto prazo) ou crônica (exposição a longo prazo), por meio de efeitos comportamentais de pós-exposição.

É importante destacar que o controle do lançamento de efluentes e qualidade da água nos corpos hídricos do Brasil é regulamentado pela resolução CONAMA nº 357/05, complementada e alterada pela CONAMA nº 430/2011, que dispõem sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes. Os monitoramentos são realizados com a finalidade de prevenção e correção, e testes ecotoxicológicos são excelentes ferramentas de avaliação da qualidade de águas, empregando organismos testes como bioindicadores que são organismos testes com padrões de avaliação de potencial tóxico.

Em relação às características dos organismos testes escolhidos *Eisenia andrei* (Oligochaeta: *Lumbricidae*, minhoca) e Phaseolus vulgaris (Fabales: *Fabaceae*, feijão), foram consideradas a metodologia de fácil adequação para o desenvolvimento dos experimentos, adaptabilidade às condições laboratoriais e a sensibilidade dos bioindicadores.

Além disso, a *Eisenia andrei* é a espécie de minhoca que tem sido bastante empregada no biomonitoramento de ecossistemas terrestres (BOUGHATTAS *et al.,* 2016).

Apesar da minhoca e o feijão não serem organismos aquáticos, apresentam relevância na análise, uma vez que essas águas residuárias algumas vezes são aproveitadas para irrigação de plantios. Portanto, são bioindicadores afetados de forma indireta. Ademais, apresentam protocolos padronizados, serão expostos a diferentes concentrações dos compostos químicos com intuito de possibilitar uma

previsão e comparação dos efeitos tóxicos (VARGAS *et al.,* 2001; MORIHAMA *et al.,* 2012; BERENDONK, 2012).

Com esta pesquisa pretende-se contribuir com informações ecotoxicológicas a respeito do ácido peracético (APA) e do cloro ativo do hipoclorito de sódio (NaClO) com os bioindicadores citados, já que na literatura até o momento não foi publicado.

Desse modo, o objetivo é realizar análises ecotoxicológicas com finalidade de se obter concentrações ambientalmente relevantes, e comparar a ecotoxicidade dos compostos ácido peracético e do cloro ativo do hipoclorito de sódio utilizando os bioindicadores *E. andrei* e *P. vulgaris*. Analisando os parâmetros: sobrevivência, o número de casulos formados e reprodução para *E. andrei*; germinação e crescimento para *P. vulgaris* (feijão).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os processos de desinfecção são um meio importante para garantir a segurança da qualidade da água, podendo eliminar microrganismos patogênicos durante o tratamento da água potável e garantir os parâmetros de qualidade para o consumo seguro da água potável na rede de distribuição (GILCA *et al.,* 2020). É importante destacar que águas residuárias passam também por processos de desinfecção com intuito de aproveitá-la para fins diversos.

Para o tratamento de águas e águas residuárias, independente da sua origem, estão envolvidas diversas etapas, sendo elas: o tratamento preliminar, primário, secundário e o terciário ou avançado, no qual inclui a desinfecção.

Destaca-se ainda, que a desinfecção tem a função de inativar os organismos patogênicos, utilizando desinfetantes físicos ou químicos. Os desinfetantes químicos são os mais utilizados, e atuam na oxidação ou rompimento da parede celular, possibilitando o espalhamento do oxidante dentro da célula e consequentemente interferindo nas atividades celulares dos microrganismos causando a sua inativação, sendo que os vírus possuem mecanismos diferentes e o ataque ocorre diretamente nos ácidos nucléicos (BLOCK, 2001).

Os subprodutos da desinfecção (DBPs) são formados quando os desinfetantes reagem com muitos precursores na água, como matéria orgânica natural (MON), contaminantes antropogênicos, compostos bromados e iodados. Desde que Rook relatou pela primeira vez trihalometanos (THMs) em 1974, mais de 700 DBPs foram identificados na água até o momento (ROOK, 1972; RICHARDSON, *et al.,* 2007).

Os desinfetantes alternativos geralmente resultam em menor formação de alguns DBPs convencionais (por exemplo, trihalometanos (THMs) e ácidos haloacéticos (HAAs), mas alguns DBPs específicos seriam gerados (DING *et al.,* 2019; LIU *et al.,* 2020; LIU *et al.,* 2020). Por exemplo, o uso de cloramina resultaria na formação de haloacetonitrilas (HANs), nitroso-dimetil-aminas (NDMA) e alguns N - DBPs, enquanto o uso de ClO_2 geralmente resulta na formação de ClO^{-3} e ClO^{-2}. Enquanto isso, a cloramina e o ClO_2 causariam a geração de DBPs iodados mais tóxicos. Quanto ao ozônio, este poderia causar a geração de aldeídos e DBPs bromados. Portanto, vários fatores devem ser considerados ao alterar o método de desinfecção para controlar a geração de DBPs, não apenas para garantir um bom

efeito de desinfecção, mas também para minimizar a formação de DBPs (DING *et al.,* 2019; LIU *et al.,* 2020; LIU *et al.,* 2020).

2.1 Avaliação de oxidantes para o tratamento de águas residuárias e seus impactos ecotoxicológicos para evitar riscos para o meio ambiente

2.1.1 Cloro

O cloro é um gás de coloração amarelo-esverdeada, cheiro forte, que apresenta um alto potencial de letalidade. O elemento foi um dos empregados como arma química com o objetivo de matar pessoas na Primeira Guerra Mundial e Segunda Guerra Mundial (CHÉROLET, 2019).

Apresenta várias aplicações, tais como: desinfetantes em estações de tratamento de esgoto e de água potável, sendo que quando adicionado à água, forma o ácido hipocloroso (HClO), que atua como agente desinfetante (bactericida), no tratamento de água residuária e de piscinas. Aproveitado na produção da resina plástica policloreto de vinila (PVC), agrotóxicos, solventes clorados, no branqueamento da polpa de celulose, e como intermediário na produção de vários compostos químicos: hipoclorito de sódio, dicloroetano,precursor do ácido clorídrico (HCl), líquido 37%, além de ser usado para fluidos para freios, na fabricação de poliuretanos, insumos farmacêuticos, amaciantes de tecidos e fibras de poliéster (CHÉROLET, 2019).

O cloro foi sintetizado pela primeira vez em 1774, por Carl Wilhelm Scheele (1742-1786), na qual foi realizada uma reação entre ácido clorídrico com dióxido de manganês. Scheele considerava-o como sendo uma substância composta. Em 1810, Humphry Davy (1778-1829) conseguiu comprovar por meio de experimentações que ele não podia ser decomposto e que o ácido clorídrico era produto da reação entre hidrogênio e cloro. Dessa forma, foi reconhecido como um novo elemento, chamado de cloro (PEIXOTO, 2003).

O composto químico tem símbolo “Cl”, onde seu número atômico é 17, Massa molar = 35,453 g/mol, tendo como Isótopos naturais $_{35}Cl$ (75,53%), $_{37}Cl$ (24,47%), ponto de fusão T_f = -103 ^{o}C, ponto de ebulição T_e = -34 ^{o}C, e está localizada na tabela periódica na família dos halogênios, grupo 17 ou 7A, no terceiro período da tabela periódica (PEIXOTO, 2003).

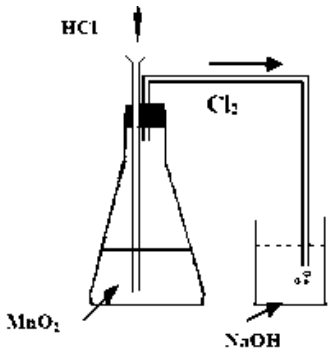
Segundo Araújo (2023), o corpúsculo de cloro com pureza e estando no seu estágio gasoso, é encontrado apenas em territórios de ocorrência de ações vulcânicas. Entretanto, pode ser encontrado na natureza agregado a outros compostos, por exemplo formando o cloreto de sódio (NaCl), sendo obtido por meio da eletrólise, possuindo uma porcentagem de 95% do cloro.

A primeira forma de obtenção do cloro em estado gasoso foi feita por Scheele, por meio da reação entre o MnO_2 e o ácido clorídrico (HCl). Pode-se observar por meio da equação 1 a seguir:

$$4HCl + MnO_2 \longrightarrow MnCl_2 + 2H_2O + Cl_2 \text{ (Equação 1).}$$

E para obtenção do hipoclorito de sódio (NaClO), pode-se verificar na Fig 1 a equação abaixo:

Figura 1- Obtenção do hipoclorito de sódio (NaClO).



$Cl_2 + 2NaOH \rightarrow NaClO + NaCl + H_2O$

Fonte: PEIXOTO, 2003.

O cloro é produzido nas indústrias por dois modos diferentes: o primeiro consiste pela eletrólise de soluções aquosas de cloreto de sódio (NaCl), no processo de produção de NaOH, e a segunda maneira é pela eletrólise do NaCl fundido, no processo de fabricação do sódio. Resumindo, o processo de produção do cloro se dar por meio da utilização de corrente elétrica em salmoura de cloreto de sódio, tendo como produto o cloro (Cl_2), a soda (NaOH) e o hidrogênio (H_2).

As fórmulas abaixo representam a primeira e a segunda maneira de obtenção do cloro industrial, respectivamente (Peixoto, 2003). Pode-se observar nas equações abaixo 2 e 3.

$$2NaCl + 2H_20 \longrightarrow 2NaOH + Cl_2 + H_2 \text{ (Equação 2).}$$

$$2NaCl \longrightarrow 2Na + Cl_2 \text{ (Equação 3).}$$

O cloro pode ser empregado tanto na forma gasosa (cloro gás, dióxido de cloro), líquida (hipoclorito de sódio) ou sólida (hipoclorito de cálcio), sendo o hipoclorito de sódio (NaClO) e o hipoclorito de cálcio $Ca(ClO)_2$ os compostos mais empregados na desinfecção de efluentes sanitários (DANIEL *et al.,* 2001).

Dessa forma, a reação do cloro com a água pode ser representada pela equação 4.

$$Cl_2\ (g) + 2\ H_2O\ (aq) \rightleftharpoons HClO(aq) + H_3O^+(aq) + Cl^-\ (aq) \text{ (Equação 4).}$$

Dependendo das características do efluente esse composto pode ter um efeito desinfetante mais eficiente ou menos. Um parâmetro relevante é o pH, o qual em valores superiores a 6, promovem a predominância de ClO^- em relação a HClO, conforme a equação 5.

$$HClO(aq) + H_2O(l) \rightleftharpoons H_3O^+\ (aq) + ClO^-\ (aq) \text{ (equação 5).}$$

Tanto o HClO como o ClO^- tem ação desinfetante e oxidante, todavia, o HClO é mais eficiente do que o íon hipoclorito na destruição de organismos patogênicos. A desinfecção utilizando o cloro com efluente que contém matéria orgânica natural favorece a formação de trihalometanos e subprodutos de desinfecção (JIANG *et al.,* 2018).

Embora a cloração exerça um papel de liderança na desinfecção de água potável e de águas residuárias, os subprodutos gerados durante o processo de desinfecção têm chamado à atenção da comunidade científica devido aos efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos relacionados à sua utilização (WU et al., 2010; DOEDERER *et al.,* 2014; LIU, 2014; JIANG *et al.,* 2018).

Os oxidantes clorados podem exibir diferentes potenciais tóxicos devido à sua formulação. Por exemplo, um estudo de Clark e Johnston (1982) sobre a cloração de sistemas de distribuição de água com diferentes desinfetantes clorados revelou que o hipoclorito de sódio apresentou um efeito mutagênico mais pronunciado em comparação com cloraminas e dióxido de cloro.

O alto poder de oxidação do cloro facilita sua ocorrência com uma variedade de compostos orgânicos e inorgânicos, resultando na formação de subprodutos como trihalometanos (THM), ácidos graxos haloacéticos, halocetonas, entre outros (SEDLAK; VON GUNTEN, 2011). A formação de THM é particularmente preocupante em processos de oxidação de efluentes com alta carga orgânica, devido ao potencial carcinogênico desses subprodutos.

A estrutura molecular do THM inclui um átomo de carbono, um de hidrogênio e três de halogênios, resultando na formação de compostos como clorofórmio ($CHCl_3$), diclorobromometano ($CHBrCl_2$), dibromoclorometano ($CHBr_2Cl$) e bromofórmio ($CHBr_3$).

Em relação à toxicidade de desinfetantes, Costa (2014) observou, em testes com organismos aquáticos, que o cloro é o desinfetante mais tóxico, aplicado por ozônio, radiação UV e perácido peracético (APA).

Ensaios ecotoxicológicos com APA, em concentrações usadas para descontaminação de água para consumo humano (0,6-3 $mg.L^{-1}$) e águas residuais (2-4 $mg.L^{-1}$), não demonstraram genotoxicidade em testes de aberração com raiz de *Allium cepa*, Tradescantia e *Vicia faba*. Vale ressaltar que a confirmação com APA resultou na redução de aberrações cromossômicas em Allium cepa (MONARCA *et al.,* 2005; CREBELLI *et al.,* 2005).

Weste *et al.* (2016) investigaram a formação de N-nitrosaminas (compostos carcinogênicos) durante a infecção com monocloramina, cloro livre e APA em água potável. Apenas o APA não foi investigado em níveis detectáveis de N-nitrosaminas.

Straus (2012) relatou valores médios de toxicidade aguda (CL_{50} de 24h) do APA para peixe-gato (*Ictalurus punctatus*) na idade adulta de 2,6 $mg.L^{-1}$, com uma maior concentração de efeito não observado - (NOEC) de 2,2 $mg.L^{-1}$. Em alevinos, os valores foram de 1,6 $mg.L^{-1}$ em relação ao CL_{50} e 1,3 $mg.L^{-1}$ o NOEC.

Meinelt *et al.* (2007) encontrou uma CL_{50} de 24h de 1,14 $mg.L^{-1}$ para Walleye juvenil em relação à APA, com 100% de mortalidade encontrada a partir de 1,7 $mg.L^{-1}$. Para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), a sobrevivência foi observada em concentrações de 1,3 e 2,6 $mg.L^{-1}$, enquanto a mortalidade ocorreu em 3,9 $mg.L^{-1}$ de APA.

Para o peixe Solha (*Pleuronectes platesa*), a CL_{50} de 96h foi de 11 $mg.L^{-1}$ em ensaios de desinfecção de águas residuais com APA (Emmanuel *et al.,* 2004). Emmanuel *et al.* (2004) destacaram que o cloro pode ser tóxico em concentrações iguais ou inferiores a 1 $mg.L^{-1}$, exemplificado pela toxicidade observada em cladóceros e peixes após infecção com 2,5 $mg.L^{-1}$ de Cl_2.

Em um estudo comparativo, Elia *et al.* (2006) não observaram estresse oxidativo ou variações na defesa antioxidante causada pelo APA no fígado de carpa (*Cyprinus carpio*), ao contrário de NaClO e ClO_2, que induziram respostas antioxidantes significativas.

2.1.2 Hipoclorito de sódio

O composto químico hipoclorito de sódio - NaClO é utilizado como desinfetante e como alvejante, atualmente é chamado apenas “alvejante”. É relevante destacar que, o NaClO é o alvejante à base de cloro mais utilizado, na qual não é propriamente tóxico por si só, mas deve-se se atentar para sua disponibilidade, concentrações, suas propriedades corrosivas, e os produtos de reações com outros compostos que pode ocasionar um risco à segurança (LUCCA, 2006). Neste sentido, pode-se citar como exemplo de formação de compostos tóxicos ao misturar água sanitária líquida com produtos de limpeza, como ácidos ou amônia.

Sua história pode ser vista quando Lucca (2006) cita o seguinte:

> O Cloro tornou-se conhecido a partir de 1774, graças à descoberta do químico sueco Karl Wilhelm Scheele ao notar durante suas experiências que soluções aquosas de cloro possuíam um elevado poder branqueante. Nas condições ambientais, ele é um gás amarelo esverdeado, tóxico, de forte cheiro, poderoso irritante dos olhos e do sistema respiratório. A primeira patente associada ao uso industrial do cloro foi em 1799 e destinava-se ao alvejamento, 25 anos após ele ser descoberto (LUCCA, 2006, p.09).

O hipoclorito de sódio é feito por meio da reação entre o cloro gás e a solução aquosa de soda cáustica, como é mostrado na equação 6. Por conta de segurança com esse composto, ele é distribuído a granel e carregado em carros-tanque devidamente revestidos.

$$Cl_2 + 2MaOH \longrightarrow NaClO + NaClO + NaCl + H_2O \text{ (Equação 6).}$$

Com base no artigo de Garrett, é possível visualizar que, atualmente, o método industrial para “a produção de NaClO é chamado de processo Hooker, no mesmo, o gás Cl_2 passa por uma solução fria de NaOH diluído, formando o NaClO, com NaCl como subproduto principal” (LUCCA, 2006). A reação de auto-oxidorredução (ou seja, o Cl_2 é ao mesmo tempo oxidado e reduzido) e concluída por meio da eletrólise, e a mistura precisa ter a temperatura controlada, que seja abaixo de 40°C para evitar a formação de interferentes indesejáveis, como por exemplo, o clorato de sódio (LUCCA, 2006).

O hipoclorito de sódio, tem sua fórmula composta por Na; O; Cl, contém 74,44 $g.mol^{-1}$, sendo uma substância sólida branca com temperatura de fusão de 18 °C

(forma penta hidratada). E sendo utilizado como: germicida, virucida e desodorizante, apresenta pouca irritação, sua toxicidade é baixa, mantem seu preço acessível e apresenta uma boa solubilidade na água (LUCCA, 2006).

2.1.3 Ácido peracético

O ácido peracético é um tipo de desinfetante que reduz a quantidade de contaminantes bacterianos, é conhecido como peróxido de ácido acético ou ácido peroxiacético, e tem sido considerado de grande eficácia, substancialmente nos Estados Unidos (SREBERNICH, 2007). Sua prestabilidade é similar ou superior a do hipoclorito de sódio, por outro lado esse ácido é consideravelmente mais ativo que o peróxido de hidrogênio. Sua aquisição é dada pela reação entre o ácido acético com o peróxido de hidrogênio. É um agente que destrói esporos bacterianos em temperaturas baixas e continua efetivo na presença de material orgânico. Sua ação biocida não possui residual tóxico.

Sua história no Brasil é contada pelo editorial Avanzi Química (2019), onde se iniciou em 23 de agosto de 1998, pela Portaria nº 15, sendo reconhecido como desinfetante e autorizado pelo Ministério da Saúde. Por ser um ácido resultante de misturas, ele é considerado um item tóxico e corrosivo. Sua solução apresenta-se em forma líquida e incolor levemente amarelado, tem seu cheiro que lembra o do vinagre.

O APA é um oxidante forte que vem sendo utilizado na desinfecção de águas residuárias, devido seu baixo potencial de formação de subprodutos tóxicos e resíduos persistentes no ambiente (DOMÍNGUEZ *et al.,* 2018). Assim, conquista cada vez mais atenção nas últimas décadas como uma alternativa adequada, e ambientalmente viável para substituição de compostos que contém cloro (DOMÍNGUEZ *et al.,* 2018). Todavia, ainda há uma escassez de informações sobre a ecotoxicidade de efluentes desinfetados pelo composto (ANTONELLI, 2009; STRAUS *et al.,* 2012).

O APA é um desinfetante que é utilizado para diversas atividades: antimicrobiana, na indústrias pode ser empregado no processamento de alimentos, bebidas, papel, na área médica e farmacêutica (SOUZA; DANIEL, 2005). É relevante destacar que o composto é chamado de peróxido de ácido acético ou ácido

peroxiacético, tendo ação sanitizante sendo bastante utilizado principalmente nos EUA (SREBERNICH, 2007).

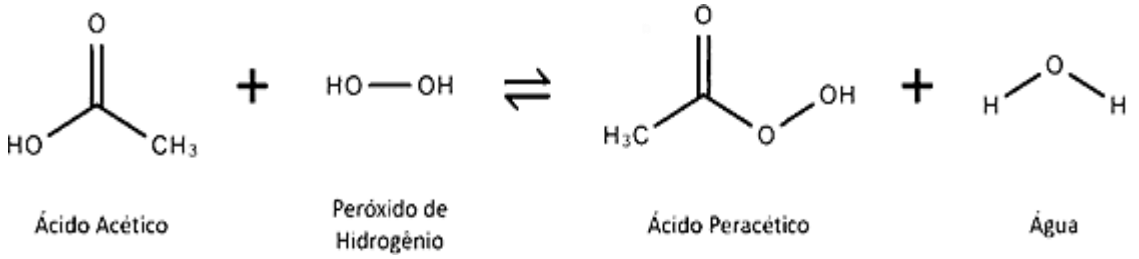
Além do mais, o APA é um produto ecologicamente correto por ser biodegradável, possui baixa toxicidade e ação efetiva em matéria orgânica. Além disto, após o uso há uma rápida decomposição transformando-se em ácido acético, água e oxigênio. Para o descarte não exige cuidados especiais, apenas a sua diluição em água, e assim pode ser lançado na rede de esgoto (NASCIMENTO; JUNIOR; SILVA; LEÃO; SANTOS, 2015). Outra vantagem está na facilidade de implementação de tratamento, uma vez que não é necessário elevado investimento (SOUZA; DANIEL, 2005).

Para Nuevo (2020), o APA é usado como: indicador para controle de fungos, bactérias e esporos; limpador de sistemas de irrigação; adjuvante em calda para aplicação de defensivos químicos; desinfetante de substratos e superfícies; desinfetante de frutas e legumes em geral; e utilizado em pedilúvio em estufas.

O ácido peracético possui dois sinônimos, nos quais são: acetil hidroperóxido e o ácido peroxiacético. Sua identificação numérica CAS é 79-21-0, e por fim, sua fórmula molecular é dada por $C_2H_4O_3$.

Dessa forma, pode-se observar a reação química do APA na figura 2 abaixo:

Figura 2: A reação química do ácido peracético.



Fonte: Dipa química, 2022.

2.2 Ensaios ecotoxicológicos no monitoramento ambiental

Esta área de estudo é responsável por avaliar com precisão os efeitos de determinados compostos químicos sobre os organismos vivos, populações e comunidades em seus ecossistemas, utilizando como parâmetros ensaios específicos de cada organismo e interações com o ambiente (ZAGATTO, 2015). De

forma prática, a ecotoxicologia envolve a aplicação de testes ecotoxicológicos como uma das estratégias mais comuns para a avaliação do modo de ação de substâncias tóxicas no ambiente (BIANCHI, 2013), fornecendo dados relevantes para se ter a utilização de compostos de forma segura, ter o controle do monitoramento ambiental, e prever danos (ZAGATTO, 2015).

Assim, sabe-se que o uso de análises químicas, físicas e ecotoxicológicas são parâmetros de avaliação que auxiliam a apontar e controlar as condições inerentes ao ambiente aquático de forma geral (DA SILVA NETO; RICARDINO; AGUIAR, 2022).

> Os estudos ecotoxicológicos são considerados ferramentas desejáveis para avaliar a qualidade das águas e a carga poluidora de efluentes, uma vez que somente as análises físico-químicas tradicionalmente realizadas, tais como demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), sólidos suspensos, concentrações de metais e de outras substâncias de caráter orgânico ou inorgânico, não são capazes de distinguir entre as substâncias que afetam os sistemas biológicos e as que são inertes no ambiente e, por isso, não são suficientes para avaliar o potencial de risco ambiental dos contaminantes (GAZOLA *et al.,* 2020, p.1).

O estabelecimento da toxicidade relativa para espécies de diferentes níveis da cadeia trófica é fundamental para estabelecer o grau de efeito de um herbicida nos ambientes terrestre e aquático (DA CRUZ, 2020). Os estudos de toxicidade são ferramentas fáceis de serem empregadas e geram resultados sobre os possíveis efeitos dos produtos químicos em organismos alvos e não alvos nos ambientes aquático e terrestre (DA CRUZ, 2020). Levando em conta a abrangência dos ensaios de toxicidade, estes podem ser realizados tanto sob condições controladas de laboratório ou em campo (BIANCHI, 2013).

2.3 Morfologia das minhocas

Segundo Lavelle (2006), as minhocas são os melhores indicadores possíveis da qualidade do solo, devem ser considerados como um recurso que precisa ser gerenciado adequadamente para melhorar os serviços ecossistêmicos fornecidos pelos agroecossistemas, pois participam ativamente das interações que se desenvolvem no solo entre processos físicos, químicos e biológicos. Entre as minhocas, as espécies de *Eisenia* têm sido extensivamente utilizadas para

biomonitoramento de ecossistemas terrestres (BOUGHATTAS *et al.,* 2016). Esta evidência implica algumas considerações importantes, sendo que em vermicultura ou vermicompostagem *E. andrei* é mais recomendado, pois suas taxas de crescimento e reprodução são maiores (DOMINGUEZ; VELANDO; FERREIRO, 2005). Cabe mencionar que essa minhoca é a mais empregada para a produção de húmus, devido adaptabilidade as condições de criação, ciclo de vida para fase adulta curto, rápida reprodução, apresenta sensibilidade para presença de substâncias tóxicas e resistente a condições ambientais (SCHIEDECK; GONÇALVES; SCHWENGBER, 2006; RIBEIRO, 2022).

Neste sentido, elas são os principais e mais importantes agentes estruturantes do solo, pois possuem a capacidade de alterar as características ambientais do solo por meio do seu deslocamento, o qual produz bioporos e agregados que interferem nas propriedades físicas do solo (CAIXETA, 2021).

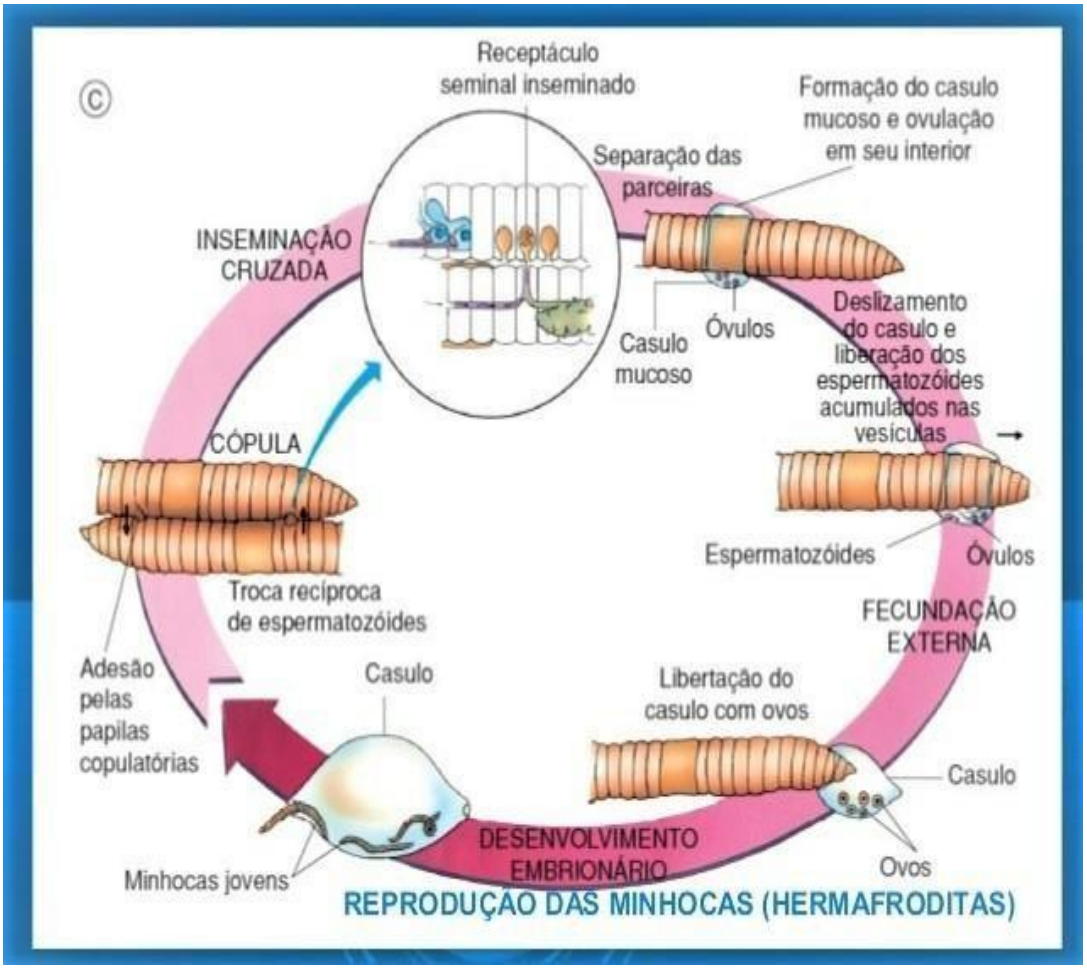
As minhocas são anelídeas, da subclasse Oligochaeta, que apresentam simetria bilateral, com corpo cilíndrico segmentado coberto por uma fina cutícula (RIBEIRO, 2022). Formenton (2005) afirma que *E. andrei* é umas das mais utilizadas para produção de húmus e compostagem, se adaptam as condições de criação em cativeiro, possuem um apetite voraz consumindo ao equivalente ao seu peso por dia, sua reprodução é rápida e maturação sexual acontece aos três meses de idade, ela libera cócons (ovos), um a cada 5 dias com uma média de 2 a 8 filhotes cada.

Sendo utilizada nos criatórios com objetivo de produção predominante de húmus, sendo proveniente da Europa Ocidental, região de clima temperado, conhecida como Vermelha-da-Califórnia, seu nome vulgar referir-se ao estado americano onde foi pioneiramente criada (GUIMARÃES, 2016).

De Oliveira (2008), fala sobre a reprodução das minhocas, a qual tem se destacado como uma atividade de extrema importância para o meio ambiente, devido à sua notável capacidade de triturar a matéria orgânica e produzir húmus de excelente qualidade. O húmus, por sua vez, é reconhecido como uma fonte de nutrientes altamente apreciados para as plantas, constituindo um material estabilizado, rico em carbono humificado, que oferece uma maior capacidade de troca de cátions. Além disso, sua mineralização ocorre de forma lenta, o que contribui significativamente para a melhoria das características físicas e químicas dos solos, sem gerar custos adicionais. Dessa forma, a reprodução das minhocas representa um processo

essencial na promoção da sustentabilidade ambiental e na preservação dos recursos naturais. Eugênia (2018) detalha na imagem abaixo o ciclo reprodutivo da minhoca.

Figura 3: Reprodução das minhocas.



Fonte: Eugênia, 2018

2.3.1 Estudos ecotoxicológicos utilizando minhoca

Os bioindicadores são caracterizados como organismos que, apesar de não morrerem por alterações do ambiente, respondem a elas por meio de reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis, que indicam e refletem alguma mudança no ambiente onde eles vivem (BIANCHI, 2013). Em relação aos bioensaios de ecotoxicidade estes são responsáveis por avaliar o efeito das substâncias tóxicas utilizando bioindicadores, ou seja, organismos que respondem de forma precoce a alteração do meio ambiente.

E para as análises se utiliza bioindicadores que são organismos que responde de forma precoce frente aos contaminantes físicos e químicos, gerando um panorama

das condições gerais de um ambiente, ou como esse altera-se ao longo de um período específico. Um bom bioindicador deve ser sensível e ter resposta detectável frente a uma exposição (PIVETTA *et al.,* 2001; BUSS *et al.,* 2003; AZEVEDO; CHASIN, 2004; MENDONÇA *et al.,* 2008; PARVEZ *et al.,* 2006; HOLT E MILLER, 2013).

"Esses testes podem ser realizados em organismos-chave do solo para determinar em que concentração os poluentes se tornam tóxicos e até que ponto eles afetam o funcionamento do ecossistema" (DAVIES; HODSON; PRETO, 2003, p.3).

Os ensaios ecotoxicológicos levam vantagens quando comparados com análises físicas e químicas, quando se avalia amostras de misturas químicas complexas como, por exemplo, águas residuárias. Podem ser feitos sem a necessidade de se identificar e quantificar os componentes do efluente, fornecendo os impactos que podem ser provocados aos ecossistemas após o seu lançamento em um corpo receptor (FERRÃO FILHO *et al.,* 2008).

Segundo Nunes (2010) o termo ecotoxicologia foi sugerido por René Truhaut em 1969, a fim de denominar essa nova área de estudo, pois na época já se tinha preocupação com os danos que os compostos químicos podem causar sobre espécies e até mesmo ao homem, e o termo envolve diversas áreas do campo da pesquisa. A ecotoxicologia emprega um número significativo de organismos, desde terrestres e aquáticos, como por exemplo: plantas, animais e microrganismos, sendo estes designados bioindicadores (PANIAGO, 2014). Os ensaios ecotoxicológicos podem ser empregados como um instrumento de monitoramento na avaliação da medida de impacto provocado por substâncias químicas dispostas sobre o solo, além de estabelecer limites permitidos para estas substâncias (CHINI, 2014).

Segundo Buch, Brown e Niva (2010) pode se fazer o uso de testes ecotoxicógicos com minhocas, pois esses animais revelam por meio de testes de comportamento, sendo este agudo ou crônico o nível de toxicidade de determinado produto ou subproduto, onde muitos destes testes foram padronizados pela ISO (organização internacional de padronização) utilizando minhocas *Eisenia fétida* e *E. andrei*, sendo estas nativas do clima temperado.

A avaliação das consequências de compostos químicos tóxicos nas comunidades naturais é um dos desígnios básicos da ecotoxicologia. De acordo com a Agência Americana de Proteção Ambiental, as decorrências de alteração ou de saúde do ambiente são chamados de indicadores ecológicos (DE ANDRÉA, 2008).

Segundo Niva *et al.,* (2012) a ecotoxicologia estuda os efeitos dos mais diversos poluentes sobre os organismos vivos e avalia o grau de impacto destes poluentes sobre o solo, estes testes ecotoxicológicos são padronizados internacionalmente e que podem ser realizados em invertebrados edáficos (minhocas, enquitreídeos e colêmbolos), devido sua importância na decomposição de matéria orgânica do solo.

Foram observadas reações de minhocas a poluentes, tais como: mortalidade, mudanças na fertilidade, peso, diminuição do número de casulos, efeitos fisiológicos, deformações do clitelo, espiralamento, modificações na capacidade de escavação, agitação e fuga ao solo contaminado (Andréa, 2010). Além disso, minhocas, e especialmente *Eisenia andrei*, são vulneráveis a poluentes nocivos, como metais pesados e pesticidas (BOUGHATTAS, 2022).

Teste de toxicidade com organismos de solo ainda são pouco desenvolvidos no Brasil, conforme observado nas reuniões cientificas promovidas pela Sociedade Brasileira de Ecotoxicologia, representando menos de 15% dos trabalhos apresentados (NUNES, 2010).

O emprego bioindicador tem sido utilizado para avaliar respostas biológicas que recomendam a exposição de organismos a poluentes para avaliar parâmetros comportamentais (DE ANDRÉA, 2008). Os organismos bioindicadores respondem por meio de reações comportamentais ou metabólicas mensuráveis, que indicam e refletem alguma mudança no ambiente onde eles vivem (PRESTES,2019).

2.4 Pheseolus vulgaris

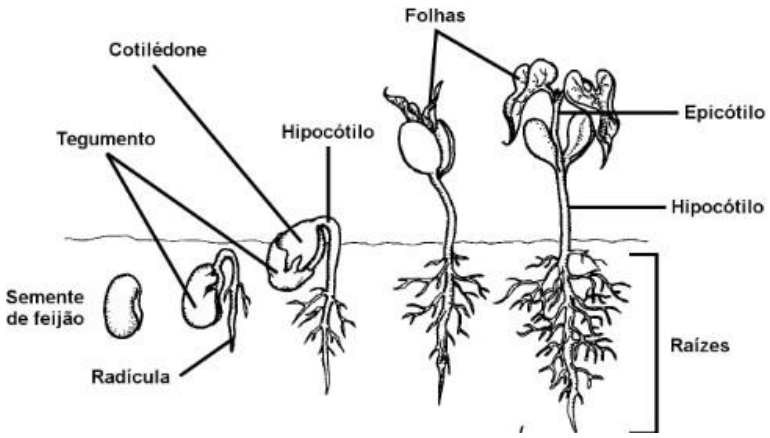
O autor Prolla (2006, p. 20) afirma que o feijão comum, também conhecido como feijão, é classificado na família *Leguminosae*, subfamília *Papilionoideae* e gênero *Phaseolus*, tendo como nome científico *Phaseolus vulgaris L*. É uma planta herbácea, que pode crescer de forma trepadora ou não, com superfície levemente pubescente. Seu ciclo de vida varia entre 65 e 120 dias, podendo variar de acordo com as condições e da época de plantio. Há quatro tipos diferentes de hábitos de crescimento, incluindo um tipo determinado e três tipos indeterminados.

Vougeleka *et al.,* (2023) relata que é amplamente cultivado em todo o mundo para consumo humano, seja em suas vagens frescas ou sementes secas. Pertencente à família Fabaceae, é considerado uma leguminosa devido ao seu alto valor nutricional, rico em proteínas, vitaminas, fibras e antioxidantes. A variedade cultivada

para consumo imediato, na forma de vagem, é considerada uma hortaliça típica do verão e frequentemente é produzida em casa de vegetação para obter uma safra fora de época.

O cultivo em casa de vegetação é uma forma intensiva de produção que pode proporcionar rendimentos elevados por planta. PEREIRA (2014, p. 33) afirma que a germinação do feijão ocorre em temperaturas baixas, e após a semeadura do feijão a germinação pode ser afetada pela temperatura, reduzindo a quantidade de plantas emergidas e consequentemente diminuindo a produtividade final. Isso se deve ao fato de que, quando a semente é plantada, ela só iniciará o processo de germinação quando as condições ideais de temperatura, umidade e luz forem atingidas.

Figura 4: Germinação do feijão



Fonte: Banco de imagens da casa das Ciências (2014).

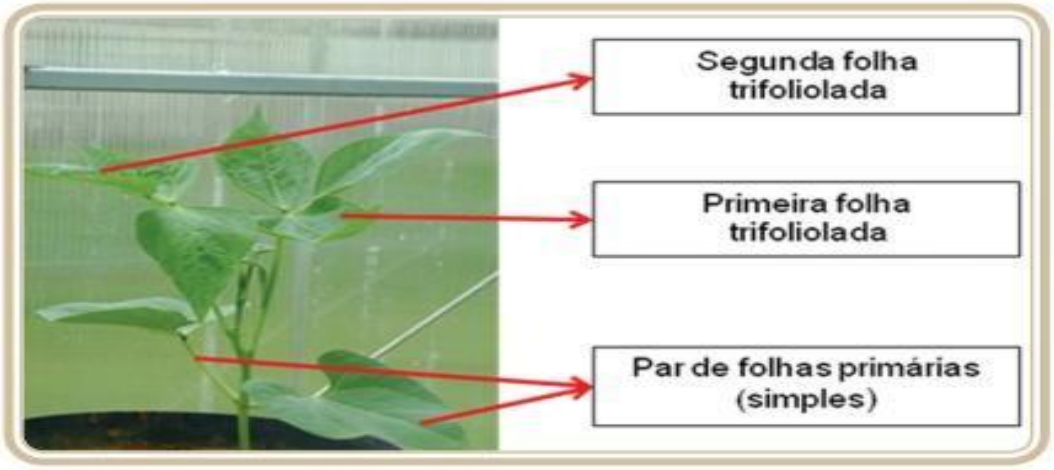
A temperatura, dentre todos os fatores climáticos limitantes ao desenvolvimento do feijoeiro, é considerada o de maior influência no desenvolvimento de vagens, bem como sobre o florescimento e frutificação (PEREIRA, 2014).

Barbosa (2012) relata que o manejo adequado do solo é fundamental para garantir condições ideais para o desenvolvimento do feijão, especialmente em relação ao sistema radicular. Como o ciclo dessa leguminosa é relativamente curto (90 a 110 dias), uma grande quantidade de nutrientes precisa ser absorvida durante esse período para garantir uma produção satisfatória e lucrativa. Portanto, é essencial manter a qualidade do solo para fornecer os nutrientes necessários à cultura do feijão. Neste sentido, o feijoeiro precisa de uma quantidade de água no solo que seja satisfatória para que haja o desenvolvimento e manutenção, especialmente no

período que compreende a germinação, emergência, floração e enchimento de grãos (PEREIRA 2014).

Zilio (2011, p. 432) assegura que a planta de feijão apresenta dois tipos de folhas: as primárias ou simples, que são opostas, e as compostas, compostas por três folíolos (trifoliadas) dispostos de maneira alternada. O caule da planta é herbáceo e possui um eixo principal formado por uma sucessão de nós e entrenós.O primeiro nó corresponde à inserção dos cotilédones, o segundo corresponde à inserção das folhas primárias (simples), o terceiro corresponde à inserção da primeira folha composta (trifoliolada) e assim sucessivamente.

Figura 5: Diferentes tipos de folhas da planta de feijão.



Fonte: Menezes Júnior; Ramalho; Abreu, 2008.

3. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 Análises em laboratório

O cultivo dos bioindicadores foram feitos e analisados no Instituto Federal do Tocantins (IFTO) – *Campus* Araguatins.

O sistema de microcosmos para o bioindicador da *Eisenia andrei* (Oligochaeta: *Lumbricidae*) foi feito usando garrafas plásticas (capacidade de 500 ml; 20 × 6 cm) sendo baseado na metodologia descrita por Chelinho *et al.* (2010), com algumas adaptações feitas por Groth *et al.* (2016). Essas caixas plásticas foram preenchidas com 500 g (massa úmida) de solo que foi cultivado de acordo com a ISO 17512-1 (ISO, 2007), contendo uma mistura de esterco de boi umedecidos com água destilada (controle), e diferentes concentrações do APA e NaClO.

Como é um teste comparativo para verificação de qual composto é mais tóxico, foi utilizado para ambos os compostos as mesmas concentrações, assim as minhocas foram expostas às concentrações de APA e do cloro ativo de 57 $mg.L^{-1}$, 60 $mg.L^{-1}$, 63 $mg.L^{-1}$, 66 $mg.L^{-1}$, de fator de 3, ambas utilizaram água destilado como controle.

Foram coletadas minhocas adultas (pesando 300-600 mg) cliteladas de culturas sincronizadas para serem distribuídas aleatoriamente nos testes. Para os 5 tratamentos foram realizadas 4 repetições com 3 organismos em cada frasco. Minhocas cliteladas (pesando 300-600 mg) foram adicionadas à superfície do solo em cada microcosmo. Após os organismos migrarem naturalmente para o solo, quatro sementes uniformes de *P. vulgaris* (feijão) foram semeadas em cada microcosmo conforme a Figura 6.

Figura 6: Teste crônico da *E. andrei* e *P. Vulgaris*

Fonte: O autor, 2023.

A irrigação consistiu na adição cuidadosa de 30 mL de água destilada ao nível do solo (controle), e diferentes concentrações do APA e NaClO, mantendo o suprimento de água suficiente para as plantas e a umidade do solo para invertebrados.

O sistema foi incubado em uma sala à temperatura de 25 ± 2 ºC, fotoperíodo 12/12 h (claro/escuro). Até a germinação das plantas, tampas com malha (<1 mm de abertura nominal) cobrirá o microcosmos para evitar a fuga de minhocas.

Assim, no vigésimo oitavo dia foi feita a transferiu-se o solo para vasos plásticos para contagem manual de minhocas adultas. Após a retirada das minhocas a areia passou por um processo de peneiramento (malha de 2 mm) para coletar os casulos. Assim, depois da verificação da sobrevivência e número de casulos, após a contagem, os organismos foram colocados novamente nos vasos, os quais foram avaliados por mais 28 dias.

Dessa forma, quando completou cinquenta e seis dias da montagem do ensaio fez-se a contagem do número de juvenis. Segundo a (Iso, 1998) para facilitar a contagem deve-se colocar os recipientes-testes, sem tampas em banho-maria em uma temperatura entre 55 ºC e 65 ºC por um tempo de 20 a 30 minutos, pois o calor estimulou a saída dos juvenis presentes para superfície, facilitando a retirada e a contagem. A suplementação alimentar era realizada a cada 9 dias com esterco bovino.

E em relação à função do habitat das plantas foram avaliadas por meio dos parâmetros de germinação (%) e crescimento acima do solo (cm), com base na ISO 11269-2 (ISO, 2005a, ISO, 2005b) adaptada ao sistema de microcosmo (GROTH, *et al*., 2016). Sete dias após o surgimento de todas as repetições dos controles, serão cortadas as partes aéreas das plantas para avaliar o crescimento.

3.2 Procedimentos para análise de dados

Foram feitas a análise estatística da sobrevivência, número de casulos e reprodução das minhocas. Além de germinação e crescimentos das plantas terrestres utilizando o software GraphPad Prism versão 9.0 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA).

Seguiu-se a metodologia citada neste estudo, e os dados adquiridos pelos pesquisadores por meio das análises ecotoxicológicas foram analisados estatisticamente para produção dos gráficos e observar efeitos significativos ou não.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os ensaios ecotoxicológicos em diferentes sistemas, organismos e compartimentos ambientais são relevantes para o monitoramento ambiental. É importante salientar que alguns produtos são reavaliados quanto a dosagem recomendada, pois dependendo da concentração pode ocasionar danos letais aos organismos prejudicando a biota. Assim, neste trabalho procurou observar efeitos por meio de análises ecotóxicologicas tais como: sobrevivência, quantidade de casulos e fertilidade para o bioindicador minhoca, uma vez que esses parâmetros são relevantes para indicar os riscos dos compostos e quantidades ambientalmente segura e que pode ser utilizado de forma mais segura. E já para o feijão foi observado a germinação e o crescimento.

Nesse sentido, o estudo fornece evidências pioneiras sobre análise comparativa entre os compostos ácido peracético e cloro ativo, utilizando como bioindicador minhoca e feijão, que apesarem de não serem afetados diretamente com os compostos em si quando a temática é tratamento de água, pode afetar indiretamente por meio da reutilização da água tratada para agricultura, e dessa maneira pode impactar a saúde das minhocas, uma das principais macrofaunas da biota do solo para manter o equilíbrio dinâmico e regular a fertilidade do solo.

4.1 Efeito crônico *E. andrei* após a exposição ao APA e ao cloro ativo

4.1.1 Efeito da mortalidade

Os valores de mortalidade para o APA e o cloro ativo em relação ao organismo *E. andrei são* apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores do CL_{50} com minhocas no intervalo de confiança de 95%

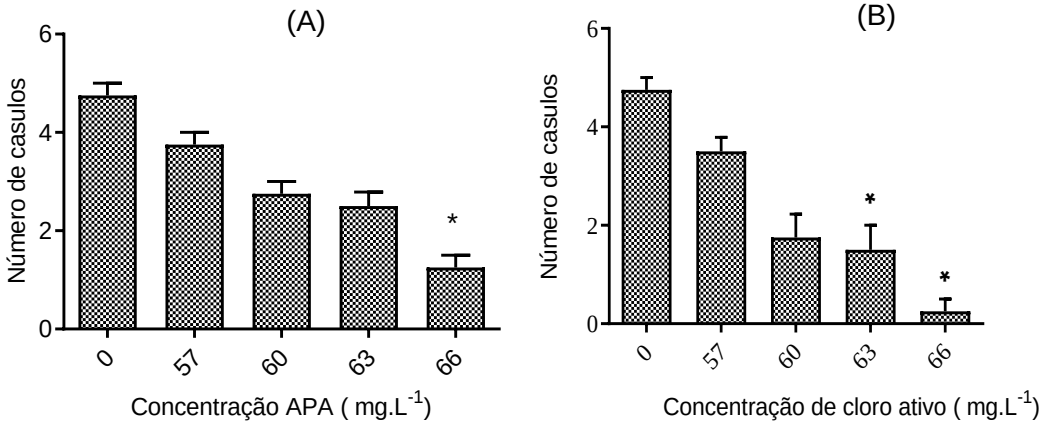
Desinfetante – Exposição de 28 dias	CL_{50}	Mínimo e Máximo	R^2
APA	63,21 $mg.L^{-1}$	62,35 - 64,20 $mg.L^{-1}$	0,8767
Cloro ativo	59,04 $mg.L^{-1}$	58,08 – 59,87 $mg.L^{-1}$	0.9188

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Durante os 28 dias de exposição das minhocas às diferentes doses de cada composto, não foi verificada mortalidade no tratamento controle, ou quaisquer outras

alterações morfológicas ou comportamentais em ambos bioindicadores. Nas concentrações maiores como esperado houve um aumento de mortalidade, deformações em algumas partes do corpo e do clitelo principalmente no cloro ativo. Sendo importante destacar que na concentração de 66 mg.L^{-1} do cloro ativo não tinha nenhuma minhoca viva, porém tinha um casulo. Neste sentido, devido a deformação do clitelo em algumas minhocas pode-se explicar a inibição do número de casulos e consequentemente a diminuição do número de ovos em algumas concentrações, e assim prejudicando a reprodução. Dessa forma, segue abaixo a representação das figuras comparativas entre o APA e cloro ativo em relação ao número de casulos.

Gráfico 1 - Número de casulos após exposição por 28 dias em concentrações de APA (A), e concentrações de cloro ativo (B). (*Denota uma diferença significativa comparada ao controle).



Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Verifica-se que a diminuição do número de casulos foi relacionada com o aumento das concentrações, apresentando redução de 73,68% na concentração 66 mg.L^{-1} de APA. Já para o cloro ativo uma redução de 68,42% e 94,74%, respectivamente nas concentrações de 63 e 66 mg.L^{-1}.

4.1.2 Efeito na reprodução de *E. andrei* após exposição ao APA e ao cloro ativo

A reprodução de *E. andrei* foi significativamente reduzida pela exposição ao APA e do cloro ativo não obtendo nenhum número de juvenis nas concentrações analisadas dos compostos. O teste foi realizado pelo analista três vezes com diferentes concentrações, porém não teve êxito em relação ao aparecimento de

minhocas novas. Uma das causas pode ter sido a falta de alimento suficiente ou a sensibilidade do bioindicador juvenil para sobreviver a altas concentrações dos compostos. E por se tratar de um estudo inédito, não se tem na literatura artigos para fazer comparações dos resultados. Cabe mencionar que não foram feitas análises no solo que serviu para montagem do sistema, que pode ser outro fator que pode ter ocasionado o efeito observado.

Assim, segue como indicação para trabalhos futuros que seja feita as análises dos solos antes da montagem do experimento, para verificação de contaminantes e que seja fornecido com mais frequência alimentos para as minhocas para fins de averiguação se o resultado foi realmente ocasionado pelos compostos ou por outros interferentes.

4.2 Germinação e crescimento *P. Vulgaris*

O número de germinação nos tratamentos controles apresentaram comportamento que favorece a validação do ensaio, uma vez que 100% das sementes adicionadas chegaram à superfície, para os dois compostos analisados. Em relação ao crescimento e germinação foram observadas diferenças significativas apenas na concentração 66 $mg.L^{-1}$, em que ocorreu uma redução de aproximadamente 95% quando exposto ao cloro ativo quando comparado com controle. Já em relação ao APA não se obteve efeito observado.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou os efeitos ecotoxicológicos do APA e do cloro ativo com dois bioindicadores. Sendo os parâmetros de avaliação a dose-efeito, na qual obteve-se CL_{50} em relação ao APA de 63,21 $mg.L^{-1}$ após avaliação de 28 dias. E em relação ao cloro ativo CL_{50} de 59,04 $mg.L^{-1}$.

Neste sentido, pode-se observar diante dos resultados que o cloro ativo apresentou uma maior ecotoxicidade quando comparado com APA, pois teve o valor de CL_{50} menor, sendo este valor utilizado para informar a concentração de um agente que causa mortalidade em 50% da população exposta, durante um determinado período de tempo.

Em relação a sensibilidade dos bioindicadores: as minhocas foram afetadas, negativamente uma vez que observou-se resultados significativos em relação ao número de sobreviventes e ao número de casulos em ambos os compostos. Em relação ao feijão teve uma redução significativa na germinação e crescimento no composto do cloro ativo.

REFERÊNCIAS

ABRAÃO, Ligia. Novas tecnologias na limpeza e desinfecção do ambiente hospitalar: vantagens, desvantagens e critérios para seleção. **17º Congress of the Internacional Federation of Infection Control**, 2017.

ANDRÉA, Mara Mercedes de. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta zoológica mexicana**, v. 26, n. SPE2, p. 95-107, 2010.

ANTONELLI, M.; MEZZANOTTE, V.; PANOUILLÈRES, M. Assessment of peracetic Acid disinfected effluents by microbiotests. **Environmental Science and Technology**, v. 43, n. 17, p. 6579–6584, 2009.

BERENDONK, Bruno. Uso de bioindicadores em estudos de ecotoxicologia: revisão da literatura. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 12, n. 2, p. 25-31, 2012.

BIANCHI, Miriam de Oliveira *et al.* **Ensaios Ecotoxicológicos como ferramenta para avaliação do impacto ambiental de resíduos de mineração sobre o solo**. 2013.

BLOCK, Seymour Stanton. **Disinfection, Sterilization, and Preservation.** 5th ed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2001, 1481p.

BOUGHATTAS, Ines *et al.* Earthworms as bioindicators of soil contamination: A review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 8, p. 7170-7185, 2016.

BOUGHATTAS, Iteb *et al.* Efeitos interativos de microplásticos ambientais e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) na minhoca Eisenia andrei. **Journal of Hazardous Materials**, v. 424, p. 127578, 2022.

BUCH, A. C., Brown, G. G., & Niva, C. C. (2010). Pontoscolex corethrurus (Müller, 1857) e Eisenia andrei, Bouché, 1972 como bioindicadoras de solos contaminados por agrotóxicos. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOTOXICOLOGIA**, 11., 2010, Bombinhas. Anais... Brisbane: International Union of Soil Science: ASSSI, 2010.

CAIXETA, Patrícia Cristina Ferreira. **Minhocas da espécie Eisenia fétida como bioindicador de solo contaminado com óleo de motor remediado por bioestimulação**. 2021. 43 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021.

CANTOR, K.T. **Drinking water and cancer.** Cancer Causes Control, v. 8, p. 292–308, 1997.

DE OLIVEIRA, Edinete Maria; COSTA, Fabiana Xavier; COSTA, Caciana Cavalcanti. Reproduçao de minhoca (*Eisenia foetida*) em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 5, p. 146-150, 2008.

CHELINHO, Mônica Cristiane Rojo; BERNARDI, Fabiano; ESPÍNDOLA, Evaldo Luiz Gaeta. **Ecotoxicologia: conceitos e aplicações.** 1. ed. São Carlos: Rima, 2010.

CHINI, Priscila. Uso de minhocas da espécie eisenia fétida, como bioindicadoras em solos contaminados com agrotóxicos. **Engenharia Ambiental e Sanitária,** Pedra Branca, 2014.

CREBELLI, R *et al*. **Genotoxicity of the disinfection by-products resulting from peracetic acid- or hypochlorite-disinfected sewage wastewater.** Water Research, v. 39, n.6, p. 1105– 1113, mar, 2005.

CREBELLI, R.; CONTI, L.; MARCHINI, S.; MONARCA, S.; FERETTI, D.; ZERBINI, I.; ZANI, C.; VESCHETTI, E.; CUTILLI, D.; OTTAVIANI, M. **Genotoxic and ecotoxic effects of urban waste water disinfected with sodium hypochlorite or peracetic acid.** Ann Ig, v. 15, n. 4, p. 277–302, 2003.

DA COSTA, Juliana Berninger *et al.* **Toxicity on aquatic organisms exposed to secondary effluent disinfected with chlorine, peracetic acid, ozone and UV radiation. Ecotoxicology**, v. 23, n. 9, p. 1803–1813, sep, 2014.

DA CRUZ, Claudinei *et al.* **ECOTOXICOLOGIA DOS HERBICIDAS: APLICAÇÕES E DINÂMICA AMBIENTAL.** MATO LOGiA, p. 450.2020.

DA SILVA NETO, Irineu Ferreira; RICARDINO, Isadora Ellen Feitoza; AGUIAR, Annalu Moreira. UTILIZAÇÃO DE Ceriodaphnia dubia COMO BIOINDICADOR AQUÁTICO EM ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS NA DETECÇÃO DE INTOXICAÇÕES CRÔNICAS. **Revista Mundial Meio Ambiente e Agrárias** (ISSN: 2525-4790), v. 7, n. 1, 2022.

DAVIES, Nicola A.; HODSON, Mark E.; PRETO, Stuart. **O teste de toxicidade aguda para vermes da OCDE é ambientalmente relevante? O efeito da forma mineral na toxicidade de chumbo calculada.** Poluição Ambiental, v. 121, n. 1, pg. 49-54, 2003.

DE ANDRÉA, Marcos. **Ecotoxicologia: princípios e aplicações.** 2. ed. São Paulo: Artmed, 2008.

DING, Shunke et al. **Disinfection byproduct formation during drinking water treatment and distribution: A review of unintended effects of engineering agents and materials.** Water research, v. 160, p. 313-329, 2019.

DOEDERER, K.; GERNJAK, W.; WEINBERG, H.S.; FARRÉ, M.J. **Factors affecting the formation of disinfection by-products during chlorination and chloramination of secondary effluent for the production of high quality recycled water.** Water Res, v. 48, n. 1, p. 218–228, 2014.

DOMÍNGUEZ HENAO, L.; TUROLLA, A.; ANTONELLI, M. Disinfection by-products formation and ecotoxicological effects of effluents treated with peracetic acid: A review. **Chemosphere**, v. 213, p. 25–40, 2018.

DOMINGUEZ, Jorge; VELANDO, Ana; FERREIRO, Ana. Growth and reproduction rates of Eisenia andrei (Oligochaeta, Lumbricidae) in different organic residues. **Pedobiologia**, v. 49, n. 2, pg. 97-102, 2005.

DU, Y.; LV, X.T.; WU, Q.Y.; ZHANG, D.Y.; ZHOU, Y.T.; PENG, L.; HU, H.Y. Formation and control of disinfection byproducts and toxicity during reclaimed water chlorination: A review**. J. Environ. Sci**, 58, p. 51–63, 2017.

Especificação Técnica do Produto. DIPA QUÍMICA, 2022. Disponível em: < https://www.dipaquimica.com.br/admin/files/arquivos/47/acido-peracetico-15espec.pdf>. Acesso em: 06 abr. 2023.

FERRÃO FILHO, A. S.; COSTA, S. M.; RIBEIRO, M. G. L.; AZEVEDO, S. M. F. **O.Effects of a saxitoxin- producer strain of Cylindrospermopsis raciborskii (cyanobacteria) on the swimming movements of cladocerans. Environmental Toxicology,** v. 23, n. 2, p. 161–168, 2008.

FORMENTON, Giuliano. **Vermicompostagem: uma tecnologia alternativa na reciclagem de resíduos orgânicos.** 2005. 79 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2005.

GAZOLA, Letícia *et al.* **Análise das legislações estaduais brasileiras sob ensaios ecotoxicológicos como ferramenta no controle de lançamento de efluentes industriais.** Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Perícias Criminais Ambientais, Florianópolis, 2020.

GILCA, Andreea Florina *et al.* Emerging disinfection byproducts: A review on their occurrence and control in drinking water treatment processes. **Chemosphere**, v. 259, p. 127476, 2020.

GROTH, V. A.; PEREIRA-CARVALHO, T.; SILVA, E. M.; NIEMEYER, J. C. A.; Ecotoxicological assessment of biosolids by microcosms**. Chemosphere**, v. 161, pg. 342–348, 2016.

GUIMARÃES, Afrânio Augusto. Reciclagem de resíduos orgânicos através da minhocultura. **Sustentabilidade**, pg. 45. 2016.

HOFER, M.; SHUKER, L. ILSI Europe Workshop on Assessing Health. Risks from environmental exposure to chemicals: the example of drinking water. Summary report**. Food Chem. Toxicol**, 38, pg. 3–12, 2000.

ISO. Soil Quality Determination of the Effects of Pollutants on Soil Florad Screening Test for Emergence of Lettuce Seedlings (Lactuca sativa L.). **ISO 17126**. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2005 a. ISO.

ISO. **Soil Quality e Avoidance Test for Testing the Quality of Soils and the Toxicity of Chemicals e Test with Earthworms (Eisenia fetida).** ISO 17512-1. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2007.

ISO. **Soil Quality e Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora. Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Plants.** ISO 11269-2. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2005b.

JIANG, J.; WANXI, L.; XIANGRU, Z.; JIAGI, L.; XIAOHU, Z. A new approach to controlling halogenated DBPs by GAC adsorption of aromatic intermediates from chlorine disinfection: Effects of bromide and contact time**. Separation and Purification Technology**, v. 203, n.1, p. 260–267, 2018.

JIANG, Xiaoqin *et al.* In vivo toxicity evaluations of halophenolic disinfection byproducts in drinking water: A multi-omics analysis of toxic mechanisms. **Water Research**, v. 218, p. 118431, 2022.

LAVELLE, Patrick e cols. Invertebrados do solo e serviços ecossistêmicos. **Jornal europeu de biologia do solo**, v. 42, p. S3-S15, 2006.

LIU, J.; ZHANG, X. Comparative toxicity of new halophenolic DBPs in chlorinated saline wastewater effluents against a marine alga: Halophenolic DBPs are generally more toxic than haloaliphatic ones. **Water Res**, v. 65, 64–72, 2014.

LIU, Xiaoyu *et al.* The occurrence, characteristics, transformation and control of aromatic disinfection by-products: A review**. Water research**, v. 184, p. 116076, 2020.

LIU, Zhi *et al.* Comparison of different disinfection processes for controlling disinfection by-product formation in rainwater. **Journal of hazardous materials,** v. 385, p. 121618, 2020.

LUCCA, Lourenço. **Controle de qualidade do Hipoclorito de Sódio no Processo de Produção.** Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, dez. 2006.

MORIHAMA, A. C. D.; AMARO, C.; TOMINAGA, E. N. S.; YAZAKI, L. F. O. L.; PEREIRA, M. C. S.; PORTO, M. F. A.; LUCCI, R. M. Integrated solutions for urban runoff pollution control in Brazilian metropolitan regions. **Water Science & Technology,** v. 66, n. 4, pg. 704–11, 2012.

MORIHAMA, Ana Carolina A.; *et al.* Uso de bioindicadores em ecotoxicologia aquática: vantagens e limitações. **Química Nova**, v. 35, n. 10, pg. 2059-2066, 2012.

NASCIMENTO, Ana C.; JUNIOR, Albano P. C.; SILVA, Célia R. G.; LEÃO, Mariella V. P.; SANTOS, Silvana S. F. Estabilidade do ácido peracético no processo de desinfecção prévia à lavagem. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent**., vol.69, nº.4, São Paulo, Out./Dez. 2015.

NIVA, Cintia Carla *et al.* **Fauna edáfica como indicadora de contaminação do solo.** 2012.

NUEVO, Francisco. **Protocolo – ácido peracético. Tec Água** – Tecnologia da Água Comercial Ltda, 2020.

NUNES, Maria Edna Tenório. **Avaliação dos efeitos de agrotóxicos sobre a fauna edáfica por meio de ensaios ecotoxicológicos com *Eisenia andrei* (Annelida, Oligochaeta) e com comunidade natural de solo.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

PANIAGO, Gustavo Gomes *et al.* **Ecotoxicologia da água residuária da suinocultura tendo minhocas como bioindicadoras.** 2014.

PRESTES, Rosi Maria; VINCENCI, Kelin Luiza. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 4, p. 1473-1493, 2019.

REHENA, Z.; MALIK, A.; AHMAD, M. Genotoxicity of the Ganges water at Narora (UP), **India. Mutat. Res.,** v. 367, n. 4, p. 187–193, 1996.

RIBEIRO, Ondina et al. As minhocas como engenheiras do solo e sentinelas da poluição. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 11, p. 5-5, 2022.

RICHARDSON, Susan D. et al. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: a review and roadmap for research. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research,** v. 636, n. 1-3, p. 178-242, 2007.

ROOK, J. J. Formation of haloform during chlorination of natural water. **Water Treatment and Examination**, v. 21, p. 259, 1972.

ROOK, J.J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. **Water Treatment andExamination**, v. 23, p. 234–243, 1974.

SCHIEDECK, G.; GONÇALVES, M. de M.; SCHWENGBER, J. E. **Minhocultura e produção de húmus para a agricultura familiar.** 2006.

SOUZA, J. B.; DANIEL, L. A. **Potencialidade do uso do ácido peracético para desinfecção de água e de efluentes**. In: 24º Congresso brasileiro de engenharia sanitária e ambiental, 2007, Belo Horizonte. p. 1-6, 2007.

SOUZA, Jeanette Beber de; DANIEL, Luiz Antonio. **Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, *colifagos e C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica.** Engenharia sanitária e ambiental, v. 10, p. 111-117, 2005.

SREBERNICH, Silvana Mariana. Utilização do dióxido de cloro e do ácido peracético como substitutos do hipoclorito de sódio na sanitização do cheiro-verde minimamente processado. **(Scielo) Food Science and Technology,** 2007.

STRAUS, David L *et al.* **Acute toxicity and histopathology of channel catfish fry exposed to peracetic acid. Aquaculture**, v. 342–343, p. 134–138, apr, 2012.

STRAUS, David L. **Toxicity of alkyl phosphonic acids to aquatic organisms. Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 787-791, 2012.

VARGAS, Vanessa Maria *et al.* Biomonitoramento de poluição de corpos hídricos: uso de bivalves como bioindicadores. **Revista da FAPAM**, v. 8, n. 1, p. 17-29, 2011.

WU, Qing Yan *et al.* Effects of chlorination on the properties of dissolved organic matter and its genotoxicity in secondary sewage effluent under two different ammonium concentrations. **Chemosphere**, v. 80, n. 8, p. 941–946, jun, 2010.

XUE, Runmiao *et al.* **Evaluation of thirteen haloacetic acids and ten trihalomethanes formation by peracetic acid and chlorine drinking water disinfection.** Chemosphere, v. 189, p. 349–356, dec, 2017.

ZAGATTO, Pedro A. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações.** Seminário Sobre Ecotoxicologia Aquática, 2015.