



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE GURUPI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

LUANA PRISCILLA RODRIGUES MACÊDO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO
PERACÉTICO E CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE CÁLCIO UTILIZANDO
OS BIOINDICADORES *DUGESIA TIGRINA* E *CHIRONOMUS XANTHUS***

GURUPI (TO)

2019

LUANA PRISCILLA RODRIGUES MACÊDO

**AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO
PERACÉTICO E CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE CÁLCIO UTILIZANDO
OS BIOINDICADORES *DUGESIA TIGRINA* E *CHIRONOMUS XANTHUS***

Dissertação apresentada a UFT – Universidade Federal do Tocantins – Campus Universitário de Gurupi para obtenção do título de Mestre em Química, sob orientação da Dr^a. Grasielle Soares Cavallini.

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Prof. Dr^a. Grasielle Soares Cavallini

Coorientador: Prof. Dr. Renato de Almeida Sarmiento

GURUPI (TO)

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

M141a Macêdo, Luana Priscilla Rodrigues.

Avaliação ecotoxicológica comparativa entre ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio utilizando os bioindicadores *Dugesia tigrina* e *Chironomus xanthus*. / Luana Priscilla Rodrigues Macêdo. – Gurupi, TO, 2019. 69 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Química, 2019.

Orientador: Grasielle Soares Cavallini

Coorientador: Renato de Almeida Sarmento

1. Bioindicadores de contaminação. 2. Desinfetantes alternativos ao cloro. 3. Desinfetante residual. 4. Preservação de ecossistemas. . I. Título

CDD 540

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

LUANA PRISCILLA RODRIGUES MACÊDO

AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA COMPARATIVA ENTRE ÁCIDO PERACÉTICO E
CLORO ATIVO DO HIPOCLORITO DE CÁLCIO UTILIZANDO OS BIOINDICADORES
DUGESIA TIGRINA E *CHIRONOMUS XANTHUS*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química foi avaliada para obtenção do título de mestre em Química e aprovada em sua forma final pelo orientador e pela banca examinadora.

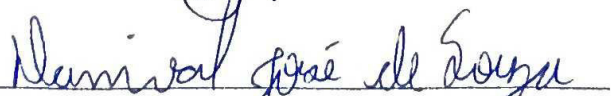
Data de Aprovação 27/03/2019

Banca examinadora:



Prof^ª. Dr^ª. Grasielle Soares Cavallini- Orientadora, UFT


Prof. Dr. Sandro Xavier de Campos- Examinador, UEPG


Prof. Dr. Danival José de Souza- Examinador, UFT

Dedico primeiramente a Deus. Aos meus pais, irmã, esposo e filho. Por todo amor, incentivo e paciência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por ter me dado força para lutar e encarar um mestrado com todas as dificuldades que eu tive.

Ao meu marido e filho que são minha fortaleza, sempre me incentivando e deixando meus dias mais alegres.

A minha mãe, meu padrasto, pai e irmã que sempre me dá força mesmo estando distantes, seus conselhos trouxeram a paz e tranquilidade em momentos difíceis.

Aos meus amigos Loany, Kadja e Argemiro por está presente nas jornadas difíceis e boas, foram tantas emoções que só Deus com sua imensa misericórdia para ajudar a terminar as disciplinas e a dissertação. Aos meus amigos do IFTO Jahny, Dinelise, Maria, André, Mikael e Iomar. E do IFPA Ieda, Vanessa, Jack e Rafael que sempre me incentivaram nós momentos mais difíceis.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa em especial para Aline por sempre estar ensinando e ajudando na condução dos experimentos.

Aos professores do mestrado, principalmente ao Douglas por ter ministrado a disciplina físico-química de forma tão intensa, gratificante e emocionante.

Ao diretor do IFTO Paulo Hernardes, pois sem intervenção dele eu não teria nem iniciado o mestrado. Deus coloca pessoas certas no momento certo na nossa vida.

Ao Dr^o Renato de Almeida Sarmiento por disponibilizar seu laboratório e aceitar a ser meu coorientador.

A Dr^a. Grasielle Soares Cavallini pela paciência, ensinamentos, orientação, incentivo. Eu agradeço a Deus por ter colocado uma orientadora iluminada na minha vida, um exemplo de mulher forte e firme.

A Universidade Federal do Tocantins Campus de Gurupi ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ).

RESUMO

A avaliação dos efeitos ecotoxicológicos dos desinfetantes são relevantes para auxiliar no estabelecimento de valores máximos permitidos em corpos hídricos, desse modo o ácido peracético (APA) e o cloro ativo do hipoclorito de cálcio foram avaliados em relação aos organismos *Dugesia tigrina* (planária) e *Chironomus xanthus* (inseto). Os bioensaios de toxicidade referentes à planária foram o teste agudo (CL₅₀) e ensaios crônicos: alimentação, locomoção, regeneração, reprodução e fertilidade. Para o organismo *Chironomus xanthus* foram realizados o teste agudo (CL₅₀) e os testes crônicos: comprimento do corpo, largura da cabeça, emergência acumulativa. Os resultados obtidos com o organismo *Dugesia tigrina* indicaram que o cloro ativo foi mais tóxico com CL₅₀ (96h) de 2,63 mg.L⁻¹ quando comparado com APA CL₅₀ (96h) 3,16 mg.L⁻¹. Exposições sub-letais ao cloro ativo foram mais tóxicas as planárias, uma vez que, reduziram significativamente a alimentação, locomoção, ocasionando maior retardo na regeneração e prejuízo na reprodução e fertilidade quando comparado com o APA. Em relação ao organismo *Chironomus xanthus* as concentrações letais de exposição aos compostos APA e cloro ativo foram, respectivamente, CL₅₀ (48h) de 14,64 mg.L⁻¹ e CL₅₀ (48h) de 1,02 mg.L⁻¹, demonstrando que o cloro ativo do hipoclorito de cálcio apresenta toxicidade quatorze vezes maior quando comparado ao APA em relação a este organismo. Em relação aos ensaios crônicos com o organismo *Chironomus xanthus*, o cloro ativo do hipoclorito de cálcio apresentou maior toxicidade em relação ao APA quanto aos parâmetros, percentual de emergência e desenvolvimento do corpo e da cabeça. Neste sentido, estes resultados apontam uma menor toxicidade do APA em relação ao cloro ativo do hipoclorito de cálcio para ambos os organismos avaliados, demonstrando que o APA é um substituinte promissor aos desinfetantes clorados. Além disso, este estudo auxilia no estabelecimento de valores máximos permitidos em corpos hídricos para o APA, o qual vem sendo estudado para aplicações em processos de desinfecção e redução de odores de efluentes sanitários.

Palavras-chave: Bioindicadores de contaminação, desinfetantes alternativos ao cloro, desinfetante residual, preservação de ecossistemas.

ABSTRACT

The evaluation of the ecotoxicological effects of disinfectants is relevant to help establish maximum permissible values in water bodies, thus peracetic acid (APA) and active chlorine of calcium hypochlorite have been evaluated for *Dugesia tigrina* (flatworm) and *Chironomus xanthus* (insect). The toxicity bioassays referring to the flatworm were the acute test (LC₅₀) and chronic tests: feeding, locomotion, regeneration, reproduction and fertility. For *Chironomus xanthus*, the acute test (LC₅₀) and the chronic tests were performed: body length, head width, cumulative emergence. The results obtained with the organism *Dugesia tigrina* indicated that the active chlorine was more toxic with LC₅₀ (96h) of 2.63 mg.L⁻¹ when compared to APA LC₅₀ (96h) 3.16 mg.L⁻¹. Sub-lethal exposures to active chlorine were more toxic for flatworm, once significantly reduced feeding, locomotion, causing a greater delay in regeneration and impairment in reproduction and fertility when compared to APA. In relation to the organism *Chironomus xanthus* the lethal concentrations of exposure to the APA and active chlorine compounds were, respectively: CL₅₀ (48h) of 14.64 mg.L⁻¹ and CL₅₀ (48h) of 1.02 mg.L⁻¹, demonstrating that the active chlorine of calcium hypochlorite, presents toxicity fourteen times greater when compared to APA in relation to this organism. In relation to the *Chironomus xanthus*, the active chlorine of the calcium hypochlorite presented higher toxicity in relation to the APA parameters, percentage of emergence and development of the body and head. In this sense, these results indicate a lower toxicity of APA in relation to the active chlorine of calcium hypochlorite for both evaluating organisms, demonstrating that APA is a promising substitute for chlorinated disinfectants. In addition, this study assists in the establishment of maximum values allowed in water bodies for APA, which has been studied for applications in processes of disinfection and reduction of odors of sanitary effluents.

Keywords: Contamination bioindicators, disinfectants alternative to chlorine, residual disinfectant, preservation of ecosystems.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1- fórmula estrutural do ácido peracético.....	21
Figura 2- Detalhes dos instares e estágios do <i>C. xanthus</i>	27
Figura 3 - Ciclo de vida de <i>C. xanthus</i>	28
Figura 4- Cultura de planárias.....	30
Figura 5- <i>Design</i> experimental do teste crônico alimentação, locomoção e regeneração.....	31
Figura 6- Avaliação do teste crônico alimentação.....	32
Figura 7- Avaliação do teste crônico locomoção.....	32
Figura 8- Avaliação do teste crônico regeneração.....	33
Figura 9- Avaliação do teste crônico reprodução.....	34
Figura 10- Gaiola de criação específica para <i>C. xanthus</i>	35
Figura 11- Teste crônico <i>Chironomus xanthus</i>	37
Figura 12- Atividade alimentar de <i>D. tigrina</i> , com a exposição de larvas de <i>C. xanthus</i> a concentrações de APA e cloro ativo de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	39
Figura 13- Atividade locomotora de <i>D. tigrina</i> , contagem do número de linhas de grade cruzadas após a exposição ao APA e o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	40
Figura 14- Efeitos das concentrações sub-letais <i>D. tigrina</i> ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	41
Figura 15- Representação em horas para formação de fotorreceptores após a exposição APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	42
Figura 16- Fecundidade de <i>D. tigrina</i> quatro semanas de exposição APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	43
Figura 17- Fertilidade de <i>D. tigrina</i> em quatro semanas de exposição ao APA e o valor referente ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	43
Figura 18- Efeitos da exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ na taxa de crescimento <i>C. xanthus</i>	45
Figura 19- Efeitos da exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ de <i>C. xanthus</i> na c. largura da cápsula da cabeça de <i>C. xanthus</i>	45
Figura 20- A porcentagem de emergência acumulativo de <i>C. xanthus</i> após exposição ao APA e ao cloro ativo $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultado do teste agudo com planária.....	38
Tabela 2- Resultado do teste agudo com <i>Chironomus xanthus</i>	44

LISTA DE SIGLAS

APA - Ácido Peracético

ASTM - Sociedade Americana de Testes e Materiais.

ANOVA - Análise Unidirecional de Variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CL₅₀ - Concentração Letal Média

CENO - Concentração de Efeito Não Observado

CEO - Concentração de Efeito Observado

CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente

ETE - Estação de Tratamento de Esgoto

IARC- Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

LOEC - Menor Concentração de Efeito Observado

NTP - Programa de Toxicologia Nacional

OCDE - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

pH - Potencial hidrogeniônico

THM - Trihalometanos

USEPA - Agência de Proteção Ambiental dos EUA

UV- Radiação Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 A utilização de oxidantes para o tratamento de águas residuárias e seus impactos toxicológicos e ecotoxicológicos	17
3.1.1 Cloro.....	17
3.1.2 Ácido peracético.....	20
3.2 A importância de ensaios ecotoxicológicos no monitoramento ambiental	24
3.3 A espécie <i>D. tigrina</i> como organismo teste para bioensaios ecotoxicológicos	26
3.4 <i>Chironomus xanthus</i>	27
4 METODOLOGIA	29
4.1 Reagentes utilizados	29
4.2 Bioensaios com <i>D. tigrina</i>	29
4.2.1 Avaliação de efeito agudo.....	30
4.2.2 Avaliação de efeitos crônicos.....	31
4.2.2.1 Avaliação do efeito na atividade alimentar.....	31
4.2.2.2 Avaliação do efeito na locomoção.....	32
4.2.2.3 Avaliação do efeito na regeneração.....	33
4.2.2.4 Avaliação do efeito na reprodução.....	33
4.2.3 Análise estatística para os ensaios com <i>D. tigrina</i>	34
4.3 Bioensaios com <i>C. xanthus</i>	35
4.3.1 Avaliação de efeito agudo com <i>C. xanthus</i>	35
4.3.2 Avaliação de efeitos crônicos para <i>C. xanthus</i>	36
4.3.3 Análise estatística para os ensaios com <i>C. xanthus</i>	37

5 RESULTADOS	38
5.1 Efeito agudo para <i>D. tigrina</i> após exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	38
5.2 Efeitos crônico a <i>D. tigrina</i> após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$..	38
5.2.1 Efeito na atividade de alimentação de <i>D. tigrina</i> após exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	38
5.2.2 Efeito na locomoção de <i>D. tigrina</i> após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	39
5.2.3 Efeitos na regeneração de <i>D. tigrina</i> após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	40
5.2.4 Efeito na reprodução de <i>D. tigrina</i> após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	42
5.2.5 Efeito na fertilidade de <i>D. tigrina</i> após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	43
5.3 Efeito agudo para <i>C. xanthus</i> após a exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	44
5.4 Efeito crônico ao <i>C. xanthus</i> após a exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	44
5.4.1 Crescimento do corpo e largura da cabeça do <i>C. xanthus</i> após a exposição ao APA	44
5.4.2 Emergência do <i>C. xanthus</i> após exposição ao APA ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	46
6 DISCUSSÃO	47
6.1 Importância dos resultados para área ambiental	49
7 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	65

1 INTRODUÇÃO

O alto índice de doenças de veiculação hídrica, principalmente em países em desenvolvimento, contribui para que o processo de desinfecção seja uma etapa essencial para o controle da poluição microbiológica da água. O cloro exerce um papel de liderança na desinfecção de água potável e de águas residuárias devido ao seu elevado poder biocida. No entanto, os subprodutos gerados na desinfecção são tóxicos, mutagênicos e carcinogênicos (DOMÍNGUEZ et al., 2018).

Por este motivo, tem-se buscado desinfetantes alternativos, que além de eficazes na inativação de microrganismos patogênicos, não gerem agentes tóxicos, indesejáveis para a saúde humana e para os ecossistemas aquáticos (WU et al., 2010; DOEDERER et al., 2014; XUE et al., 2017; JIANG et al., 2018).

Dentre os desinfetantes potencialmente indicados para substituir o cloro, tem-se o ácido peracético (APA), um oxidante forte, já utilizado em vários segmentos, como: na limpeza de equipamentos e processamento de alimentos (BANACH et al., 2015); na área de saúde, para a esterilização de endoscópios (CHENJIAO et al., 2016) e desinfecção de superfícies hospitalares (BOYCE, 2016); na produção industrial de compostos químicos, como por exemplo, a conversão de cetonas em ésteres (KAUR, 2014); como agente branqueador de alto brilho (GERMGARD, 2009), e mais recentemente na área de saneamento ambiental como desinfetante (KITIS, 2004).

A toxicidade dos resíduos clorados nos sistemas aquáticos depende não apenas da quantidade de cloro adicionada, mas também da concentração de cloro residual remanescente na solução. O APA produz menos impactos ambientais do que os desinfetantes convencionais, como NaOCl, ClO₂, Ca(ClO)₂ em termos de formação de subprodutos de desinfecção e efeitos tóxicos, carcinogênicos, mutagênicos ou genotóxicos em diferentes organismos indicadores (DOMÍNGUEZ et al., 2018).

Souza e Daniel (2007) apontam que em relação à toxicidade residual e a viabilidade de formação de subprodutos gerados na desinfecção, o APA, é classificado como não carcinogênico por instituições internacionais, tais como, a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) e o Programa de Toxicologia Nacional (NTP).

Para que sua utilização possa ser consolidada e segura, estudos quanto à aplicação do APA são necessários, avaliando não só seu potencial desinfetante com análises

microbiológicas, mas também, estimando os impactos gerados pelo seu lançamento em ambientes naturais, por meio de estudos ecotoxicológicos.

Os ensaios ecotoxicológicos são relevantes, uma vez que, são capazes de monitorar os efeitos das substâncias químicas no organismo-teste, por efeitos comportamentais de pós-exposição. Apesar do ácido peracético estar sendo cada vez mais empregado na desinfecção de águas residuárias (KITIS, 2004), ainda há uma escassez de informações sobre a ecotoxicidade de efluentes desinfetados pelo composto (ANTONELLI, 2009; STRAUS et al., 2012).

Neste sentido este trabalho avaliou dois bioindicadores: *Dugesia tigrina* (planária) e *Chironomus xanthus* para avaliação da toxicidade do APA. Por se tratar de um estudo inédito quanto aos organismos avaliados, os ensaios levando em consideração o cloro ativo do hipoclorito de cálcio foram realizados paralelamente, possibilitando avaliar o nível de ecotoxicidade do APA de forma comparativa ao cloro ativo.

Quanto às características dos organismos testes selecionados, foram consideradas a adaptabilidade às condições laboratoriais, a sensibilidade dos bioindicadores, assim como o fato da planária ter comportamento predatório às larvas do *Chironomus xanthus*, o que possibilita a avaliação dos agentes químicos em dois níveis tróficos.

As planárias são platelmintos, da classe Turbellaria segundo a classificação tradicional, pertencentes à família Dugesidae, e são utilizadas como indicadores da toxicidade de agentes químicos, pois são sensíveis a baixas concentrações de toxinas ambientais (RODRIGUES et al., 2016), apresentando ensaios menos complexos para avaliação do seu comportamento locomotor (PAGAN.; COUDRON.; KANERIA, 2009; KNAKIEVICZ, 2014), habilidade de regeneração (REDDIEN.; ALVARADO, 2004), importância na cadeia alimentar e capacidade de bioacumulação (KNAKIEVICZ, 2014).

O inseto *Chironomus xanthus* pertence à ordem diptera da classe Insecta. Esta espécie é utilizada para o monitoramento em estudos de ecotoxicologia por ser sensível a diferentes concentrações de poluentes, fácil cultivo, por apresentar um papel importante na cadeia alimentar e um ciclo de vida curto que inclui fases aquáticas (ovo, quatro estádios larvais e fase de pupa) e uma fase alada terrestre que é o estágio adulto (RODRIGUES et al., 2015).

Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição dos organismos *Dugesia tigrina* (planária) e *Chironomus xanthus* (dípteros) ao ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio, utilizando parâmetros desenvolvidos com base na atividade dessas espécies de invertebrados de água doce, avaliando: concentração letal (CL₅₀),

alimentação, locomoção, regeneração, fertilidade e fecundidade para as planárias; e CL₅₀, comprimento do corpo, largura da cabeça e emergência para os dípteros.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

- Realizar análises ecotoxicológicas com finalidade de comparar a ecotoxicidade dos compostos ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio utilizando os bioindicadores *Dugesia tigrina* e *Chironomus xanthus*.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a ecotoxicidade do ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio utilizando o bioindicador *Dugesia tigrina*, através de ensaios avaliando efeito letal (CL₅₀), e crônico (alimentação, locomoção, regeneração, fertilidade e fecundidade).
- Determinar a ecotoxicidade do ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio utilizando o bioindicador *Chironomus xanthus*, através de ensaios avaliando efeito agudo (CL₅₀), e crônico (comprimento do corpo, largura da cabeça, emergência acumulativa).
- Comparar os dois oxidantes quanto ao potencial de ecotoxicidade, relacionando com suas concentrações e efeito observado após o teste agudo e crônico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

O Relatório Mundial das Nações Unidas referente à Avaliação dos Recursos Hídricos apontou que 3,6 bilhões de pessoas, aproximadamente metade da população mundial, vivem em áreas com potencial escassez de água durante ao menos um mês por ano. Essa estimativa pode aumentar para mais de 5 bilhões em 2050, e assim, a demanda mundial por água, avaliada atualmente em torno de 4,6 mil km³ por ano, atingiria 5,5 mil km³ ou 6 mil km³ por ano. O atual uso mundial de água doce já está próximo do limite máximo de sustentabilidade, e esse equilíbrio frágil esconde grandes disparidades locais e regionais (UNESCO, 2018).

A Cidade do Cabo, África do Sul, se prepara para ser a primeira grande cidade do mundo a ficar sem água potável. Sendo importante destacar que essa escassez mundial está relacionada com mudanças climáticas, aumento do crescimento populacional, que consequentemente gera um aumento exponencial no consumo desse recurso e a falta de conscientização que promove o desperdício. Um dado alarmante é que 80% das águas residuárias voltam para os ecossistemas sem serem tratadas, ocasionando à degradação dos ecossistemas, o que amplia ainda mais os desequilíbrios ecológicos e a escassez hídrica (UNESCO, 2018).

Neste contexto é relevante que sejam adotadas medidas para proteger o capital natural da Terra, como a proteção e restauração dos ecossistemas naturais e artificiais de forma efetiva e sustentável, com intuito de melhorar o bem-estar das pessoas e preservar a biodiversidade. Como alternativas tem-se o planejamento de novas florestas, a reconexão de rios a planícies de inundação, a restauração de zonas úmidas, o tratamento adequado de efluentes e a reutilização das águas residuárias, a qual permitiria não só a redução do volume de efluentes lançados, como também a menor captação deste recurso dos corpos d'água.

Para o tratamento de águas residuárias, independente da sua origem, estão envolvidas diversas etapas, sendo elas: o tratamento preliminar, primário, secundário e em alguns casos o terciário ou avançado, o qual inclui a desinfecção. A etapa de 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, no caso dos vírus o mecanismo é diferente e o ataque ocorre diretamente nos ácidos nucleicos (BLOCK, 2001). Os sistemas de tratamento de efluentes tem um papel importante para a proteção dos corpos hídricos e vem sendo cada vez mais aprimorados para

atingirem alta eficiência na remoção de contaminantes químicos e microbiológicos. A utilização de desinfetantes no tratamento terciário em Estações de Tratamento de Esgoto (ETE) demonstra este empenho, no entanto, trazem novas preocupações, como a concentração residual de oxidantes no efluente tratado.

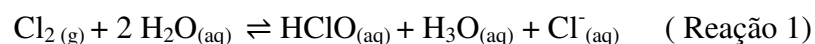
3.1 A utilização de oxidantes para o tratamento de águas residuárias e seus impactos toxicológicos e ecotoxicológicos

Na desinfecção de esgotos sanitários são empregados diversos tipos de desinfetantes, sendo o cloro o mais utilizado, por apresentar características, como alto poder oxidante, baixo custo, facilidade de aplicação, eficiência na remoção de odor, gordura e cor (DEBORDE.; VON GUNTEN, 2008; BITTON, 2011).

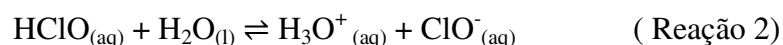
3.1.1 Cloro

A propriedade biocida do cloro foi confirmada em 1881, e a partir do século XIX foi amplamente utilizado para desinfecção de águas de abastecimentos públicos da Europa e Estados Unidos (DA COSTA, 2007). Além de atuar na oxidação de ferro, manganês nas águas de abastecimento e oxidação de enxofre em águas residuárias, reduzindo o odor de processo de degradação anaeróbia (SNOEYINK.; JENKINS, 1980; WHITE, 2010).

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 $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 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 Reação 1.



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 Reação 2.



Tanto o HClO como o ClO⁻ têm 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 trihalometano e subprodutos de desinfecção.

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 apresentar potenciais tóxicos distintos em virtude de sua formulação, a exemplo disso Clark e Johnston (1982) estudaram a cloração de sistema de distribuição de água com diferentes desinfetantes clorados e observaram que o hipoclorito de sódio apresentou maior efeito mutagênico que cloraminas e dióxido de cloro. O alto poder de oxidação do cloro favorece a sua reação com inúmeros compostos orgânicos e inorgânicos, possibilitando a formação de subprodutos, como trihalometanos (THM), ácidos haloacéticos, halocetonas, entre outros (SEDLAK; VON GUNTEN, 2011).

A formação de THM é um dos fatores mais preocupantes quanto à utilização de desinfetantes clorados em processos de oxidação de efluentes com elevada carga orgânica, em virtude do seu potencial carcinogênico. A estrutura molecular dos THM apresenta um átomo de carbono, um de hidrogênio e três de halogênios, possibilitando a formação de quatro compostos em maiores concentrações: clorofórmio (CHCl₃), diclorobromometano (CHBrCl₂), dibromoclorometano (CHBr₂Cl) e bromofórmio (CHBr₃). A formação do clorofórmio é mais abundante devido à necessidade de íons brometo no efluente clorado para formação dos outros três compostos (SANCHES.; SILVA.; VIERIA, 2003).

Estudos realizados a partir de 1974, nos Estados Unidos, apresentaram as primeiras indicações de correlação entre a água de abastecimento, os trihalometanos e o câncer. Sendo a alta temperatura um fator decisivo para a maior formação desses subprodutos (MACEDO, 2001). Por este motivo, a especificidade de cada desinfetante como concentração e tempo de contato, assim como os fatores ambientais: temperatura, condutividade, potencial hidrogeniônico (pH), alcalinidade, entre outros são importantes para que sua aplicação seja eficaz e segura, no sentido de minimizar a formação de subprodutos tóxicos e as concentrações residuais após a desinfecção.

As concentrações residuais do desinfetante também conferem efeitos negativos aos ecossistemas, Fisher et al. (1999) constataram que o cloro residual livre foi responsável por

causar toxicidade aguda CL_{50} (concentração que causa mortalidade a 50% dos organismos expostos) de $59 \mu\text{g.L}^{-1}$ em relação a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, $78 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Amphipoda *Hyalella azteca*, $32 \mu\text{g.L}^{-1}$ para Cladocera *Daphnia magna* e $62 \mu\text{g.L}^{-1}$ para o Mysidaceo *Mysidopsis bahia*, o que justifica a necessidade de estabelecer valores limites do desinfetante no efluente final com o objetivo de reduzir os impactos gerados.

Os efeitos adversos à saúde humana e aos ecossistemas aquáticos motivam a investigação de desinfetantes alternativos que possam substituir os compostos clorados, dentre as alternativas estão à radiação ultravioleta (UV), um processo físico de desinfecção e os desinfetantes químicos, como o ozônio, peróxido de hidrogênio e perácidos orgânicos, como o ácido peracético (APA).

O processo de desinfecção com radiação UV exige equipamentos caros, longo tempo de implementação e são muito sensíveis a altas concentrações de sólidos suspensos, matéria orgânica e turbidez (GEHR et al., 2003 ; MEZZANOTTE et al., 2007).

A ozonização é um processo utilizado desde 1975, e embora sua ação desinfetante seja elevada, este oxidante apresenta como desvantagem os altos custos de operação, a necessidade de produção na própria estação de tratamento e altas concentrações para aplicação em efluentes. Os avanços tecnológicos no processo de ozonização tornaram o seu custo mais atrativo, se avaliado a longo prazo e por isso pode ser considerado competitivo ao desinfetante cloro (XU et al., 2002; GEHR et al., 2003).

Em estudos de toxicidade do ozônio em processos de desinfecção, foram identificadas a formação de compostos, como, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, sendo os aldeídos os principais compostos formados (CHIANG et al., 1999). Os aldeídos são precursores de subprodutos potencialmente carcinogênicos e mutagênicos como: formaldeído (H_2CO), acetaldeído ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$), glioxal ($\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_2$) e metilglioxal ($\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$) (BULL.; KOPPFLER, 1991).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) também é um oxidante utilizado como desinfetante em estações de tratamento de esgotos, no entanto, apresenta altos custos de operação, frequente manutenção de equipamentos e geralmente requer concentração alta do oxidante (ZHANG et al., 2008).

O ácido peracético pode ser considerado uma das alternativas mais recentes como substituinte do cloro para desinfecção de águas residuárias, embora o APA apresente várias vantagens, sua consolidação exige mais pesquisas, para que sua aplicação seja segura, principalmente quanto ao seu potencial ecotoxicológico.

3.1.2 Ácido peracético

O ácido peracético (APA) tem conquistado cada vez mais atenção nas últimas décadas como uma alternativa adequada e ambientalmente viável para substituição de compostos clorados utilizados na desinfecção de águas residuárias, em virtude do seu baixo potencial de formação de subprodutos tóxicos e resíduos persistentes no ambiente (CHHETRI et al., 2014; DOMÍNGUEZ et al., 2018).

Além disso, o APA é um desinfetante com largo espectro de inativação de microrganismos, atuando como bactericida, virucida e fungicida, mesmo na presença de matéria orgânica heterogênea, e também apresenta facilidade de implementação, sem a necessidade de investimento de grande capital (NASCIMENTO et al., 2003; BORGES, 2008). Outras vantagens são a baixa dependência do pH, o tempo de contato curto, a eficácia para efluentes primários e secundários, a não formação de compostos orgânicos halogenados (AOX) (LÉO, 2008), além de não necessitar de supressão, ao contrário do cloro que em alguns casos exige a decloração.

O potencial de esterilização e desinfecção do ácido peracético (APA) foi observado e descrito pela primeira vez por Freer e Novy em 1902. Todavia, este produto só foi disponibilizado comercialmente, após a fabricação do peróxido de hidrogênio 90% (BLOCK, 2001). A síntese do APA ocorre pela reação entre o peróxido de hidrogênio e o ácido acético (Reação 3) na presença de um catalisador que na maioria das vezes é o ácido sulfúrico (H₂SO₄) (KITIS, 2004).

Na reação o ácido acético é oxidado pelo peróxido de hidrogênio, resultando em concentrações do APA de 15%, e 25% de água, além de concentrações residuais de peróxidos de (25%) e ácido acético de até 35%. As soluções de APA acima de 15% apresentam risco de explosão devido a sua alta instabilidade e reatividade, por isso, as indústrias utilizam soluções com concentrações entre 10 e 15%, que são mais estáveis (BLOCK, 2001).

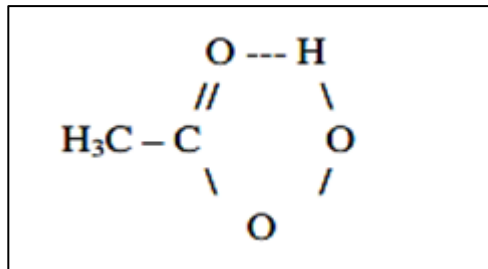


O APA 15% comercial, geralmente apresenta a composição de 15% de ácido peracético, 23% peróxido de hidrogênio, 16% de ácido acético, a qual confere características físico-químicas como: aparência líquida incolor, odor acético, pH= 2 em uma solução aquosa de 100 g.L⁻¹ à 20°C, acidez (pKa) de 8,20, densidade de 1,12 g/mL, miscibilidade em água em

qualquer proporção, massa molar de 76,05 g/mol e temperatura de decomposição de 55°C (SOLVAY, 2017).

A fórmula estrutural mais aceita pode ser verificada na Figura 1, na qual há uma formação de uma ligação de hidrogênio intramolecular, ocorrendo dessa forma à redução do efeito indutivo do grupo acila sobre o próton, que ocorre devido à introdução de um segundo átomo de oxigênio.

Figura 1- fórmula estrutural do ácido peracético



Fonte: (ANDO et al., 1992 apud BRASILEIRO et al., p. 820, 2001).

O APA é utilizado em várias indústrias incluindo a de processamento de alimentos, bebidas, farmacêutica, têxteis e também na esterilização de laboratórios, hospitais e no branqueamento de papel (KITIS, 2004). Seu uso no saneamento ambiental recebe cada vez mais atenção para desinfecção de águas residuárias, no entanto, não há legislação que estabeleça o seu limite residual para lançamento.

O emprego do APA como desinfetante e esterilizante foi autorizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 29 de novembro de 1993, através da portaria nº 122/DTN, sendo incluída à Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988, a qual institui o registro de produtos domissanitários com finalidade antimicrobiana, entretanto, a desinfecção de água de abastecimento ainda é feita através do cloro (CAVALLINI, 2011).

O Centro Europeu de Ecotoxicologia e Toxicologia de Produtos Químicos e outros pesquisadores consideram que a finalidade de inativar microrganismos dos desinfetantes é um motivo razoável para se esperar que concentrações residuais desses produtos possam representar um risco significativo para os ecossistemas e organismos que não sejam os alvos de desinfecção (FERRARIS et al., 2005 ; FRENZILLI.; NIGRO.; LYONS, 2009).

No entanto, não há evidências de qualquer potencial de disrupção endócrina relacionados ao APA em estudos toxicológicos ou ecotoxicológicos. Além disso, o APA não está incluído na lista de desreguladores endócrinos do documento de trabalho dos serviços da Comissão que estabelece os critérios científicos para a sua determinação na legislação da União Européia (Comissão ao Parlamento Europeu e ao Conselho, 2016).

A maioria dos subprodutos identificados durante a desinfecção com o APA são ácidos carboxílicos que não são reconhecidos como mutagênicos. Vale ressaltar que estes subprodutos são relatados após a desinfecção da água potável com outros agentes, como ClO_2 , ozono e cloraminas (MONARCA et al., 2002). De acordo com Luukkonen e Pehkonen (2016), a concentração dos ácidos carboxílicos aumenta em função do ácido acético presente na solução de equilíbrio proveniente da decomposição do APA.

Todos os aspectos pertinentes à utilização do APA na desinfecção vêm sendo discutidos por diversos pesquisadores, principalmente em países europeus que apresentam parâmetros microbiológicos mais rigorosos para o lançamento de águas residuárias em corpos de água, e por este motivo já utilizam o APA como forma alternativa ao uso do cloro, devido à redução de subprodutos formados. No Reino Unido e na Itália, onde o emprego do cloro são restritos, e a concentração limite de trihalometanos na água para reuso é de 0,03 mg/L, os efluentes são tratados com APA como agente de desinfecção para posterior reuso na agricultura (NURIZZO et al., 2005; FALSANISI et al., 2006; ROSSI et al., 2007; AZZELLINO et al., 2011). Assim como na Europa e nos Estados Unidos o APA é utilizado no tratamento de águas residuárias (SHAH et al., 2015).

Quanto aos mecanismos de desinfecção existe uma diferença entre o APA e o hipoclorito. Pois, oxigênio produzido pelo APA afeta as ligações dos grupos sulfidrilas e sulfurosas da membrana celular, enquanto o hipoclorito não é seletivo e reage rapidamente com compostos orgânicos e não orgânicos (XUE et al., 2012). Outra diferença é quanto ao tamanho dos sólidos presentes no efluente, os quais tem pouco efeito sobre a desinfecção com APA, no entanto reduzem a eficiência do cloro com o aumento do tamanho dos sólidos (MCFADDEN et al., 2017).

De acordo com De Sanctis et al. (2016) o tratamento com APA exhibe uma taxa de eliminação de bactérias semelhante ou superior a radiação ultravioleta em efluentes secundários de águas residuárias. Da Costa (2007) avaliou a eficiência de inativação da *E. coli* com diferentes oxidantes e constatou que o APA apresenta eficiência superior ao ozônio e a radiação ultravioleta, no entanto, inferior ao cloro.

Antonelli et al. (2006) avaliaram a eficiência a longo prazo da desinfecção com APA, monitorando o potencial de recrescimento de *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas totais, e não observaram condicionamento significativo após o tempo máximo de estudo de 29 horas para as bactérias do grupo coliforme. Nenhum recrescimento ocorreu, mesmo sem concentrações residuais do APA, sugerindo que as bactérias são incapazes de reparar os danos

causados pelo oxidante, o que o torna um agente desinfetante eficiente, não apenas como bacteriostático, mas também bactericida.

O APA tem sido reconhecido como um desinfetante sustentável na aquicultura, por sua rápida degradabilidade (PEDERSEN et al., 2009) e formação de subprodutos inofensivos (KITS, 2004). Vale ressaltar que concentrações inferiores a 2 mg.L^{-1} de APA são suficientes para agir contra vários patógenos (PEDERSEN.; BRODERSEN.; CECIL, 2013), enquanto que o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) necessita de uma concentração superior a 20 mg.L^{-1} para obter uma desinfecção bem sucedida (SCHMIDT et al., 2006).

Quanto à toxicidade de outros desinfetantes em relação ao APA, DA Costa (2014) utilizou os organismos aquáticos: *Ceriodaphnia silvestrii* (crustacea) e *D. similis* (crustacea), *Chironomus xanthus* (Insecta) e *Danio rerio* (peixe) e constatou que o cloro foi considerado o desinfetante mais tóxicos aos organismos, seguindo de ozônio, radiação UV e APA.

Ensaio ecotoxicológicos com APA utilizando concentrações que são empregadas para desinfecção da água para consumo humano, ou seja, na faixa de $0,6 - 3 \text{ mg.L}^{-1}$ (MONARCA et al., 2005) e de 2 a 4 mg.L^{-1} para águas residuárias (CREBELLI et al., 2005) não provocaram genotoxicidade na raiz de *Allium cepa* com base no teste de aberração, e nem nas espécies de *Tradescantia* e *Vicia faba* com base no teste do micronúcleo. Sendo relevante destacar que após a desinfecção com o agente químico houve a diminuição de aberrações cromossômicas do *Allium cepa*.

West et al. (2016) estudou a formação de *N*-nitrosaminas (compostos químicos carcinogênicos) no processo de desinfecção com monocloramina, cloro livre e APA na presença de precursores de aminas no sistema de água potável e apenas com o APA não foram quantificadas *N*-nitrosaminas em níveis detectáveis.

Segundo Straus (2012) os valores médios de toxicidade aguda (CL_{50} de 24h) do APA para o peixe-gato, *Ictalurus punctatus*, na idade adulta foi de $2,6 \text{ mg.L}^{-1}$ e NOEC de $2,2 \text{ mg.L}^{-1}$, e na forma de alevino foi de $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ e NOEC de $1,3 \text{ mg.L}^{-1}$. De acordo com Meinelt et al., (2007) a toxidade aguda (CL_{50} de 24h) para walleye juvenil em relação ao composto APA foi de $1,14 \text{ mg.L}^{-1}$ e a partir de $1,7 \text{ mg.L}^{-1}$ houve 100% de mortalidade. A truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sobreviveu a $1,3$ e $2,6 \text{ mg.L}^{-1}$ de APA, enquanto a mortalidade foi verificada após a exposição $3,9 \text{ mg.L}^{-1}$ de APA (MEINELT et al., 2007). Para o peixe Solha (*Pleuronectes platessa*) verificou-se CL_{50} de 96h de 11 mg.L^{-1} , em ensaios de desinfecção de águas residuárias com APA (EMMANUEL et al., 2004).

De acordo com Emmanuel et al. (2004), o cloro pode exibir toxicidade aguda para organismos aquáticos em concentrações menores ou iguais a 1 mg.L^{-1} , a exemplo disso a

desinfecção do efluente de águas residuárias com $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de Cl_2 resultou em toxicidade para cladóceros e peixes. Em um ensaio comparativo Elia et al. (2006) não observaram estresse oxidativo ou variações de defesa antioxidante induzidas por APA no fígado de carpa (*Cyprinus carpio*), enquanto NaClO e ClO_2 induziram respostas antioxidantes significativas.

Liu et al. (2015) descrevem que a toxicidade do APA difere em função das várias proporções de $\text{H}_2\text{O}_2/\text{APA}$, em um estudo para o tratamento de patógenos de peixes como bactérias lipoplâncton-líticas, foi observado que quanto menor a proporção $\text{H}_2\text{O}_2/\text{APA}$ menos tóxico foi o desinfetante (DIBO et al., 2016), dando indícios de que o peróxido de hidrogênio seria o maior responsável pela toxicidade do produto.

Pedersen et al. (2013) e Liu et al. (2014) também observaram variações na toxicidade do APA em organismos de água doce e salgada, sendo descrito menor efeito tóxico para organismos marinhos, fato que pode ser justificado pelo menor tempo de meia-vida do APA em águas salobras e com dureza elevada.

3.2 A importância de ensaios ecotoxicológicos no monitoramento ambiental

O toxicologista francês René Truhaut em junho de 1969 mencionou pela primeira vez o termo ecotoxicologia, na reunião do *Committee of the International Council of Scientific Unions* (ICSU), em Estocolmo, em que conceituou a ecotoxicologia como a ciência que monitora os efeitos das substâncias em nível de organismos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos (FERRÃO FILHO et al., 2008).

A ecotoxicologia é uma área da toxicologia ambiental que monitora efeitos tóxicos provocados por compostos químicos nos organismos vivos, através de bioensaios. A toxicologia ambiental também faz o estudo dos efeitos dos agentes químicos do ambiente sobre os seres humanos (REGINA et al., 2008).

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. Estes organismos normalmente têm protocolos padronizados, sendo expostos a concentrações dos compostos químicos com intuito de possibilitar uma previsão dos efeitos tóxicos do lançamento de efluentes e compostos químicos (VARGAS et al., 2001; MORIHAMA et al., 2012; SEILER.; BERENDONK, 2012).

Estes ensaios levam vantagens quando comparados com análises físicas e químicas, quando se avaliar amostras de misturas químicas complexas como, por exemplo, águas

residuárias. Pois, os ensaios ecotoxicológicos podem ser feitos sem a necessidade de se identificar e quantificar os componentes do efluente, fornecendo os impactos que pode ser provocado ao ecossistema após o seu lançamento em um corpo receptor (FERRÃO FILHO et al., 2008).

É importante destacar que análises ecotoxicológicas podem avaliar efeitos tóxicos em diferentes níveis de organização: celular, indivíduo, populações, comunidades e ecossistemas. E podem ser realizados com vários organismos, como por exemplo: microcrustáceos, bactérias, algas, organismos bentônicos e peixes. Esses efeitos são avaliados por testes agudos ou letais monitorando a letalidade ou imobilidade, em organismos-teste expostos por curto período de tempo, que pode variar de acordo com o ciclo de vida, entre 24 e 96 horas para peixes e microcrustáceos, respectivamente. (KNAPIK.; ANDREATTA, 2013).

O resultado é expresso como Concentração Letal Média (CL₅₀), que é a concentração do agente tóxico capaz de causar mortalidade ou imobilidade, a 50% dos organismos após o tempo de exposição, e quanto menor for o valor de CL₅₀ é um indicativo de maior o efeito tóxico da substância ou amostra (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Para os testes crônicos ou sub-letal os organismos são expostos por um tempo maior, geralmente um terço do seu ciclo de vida, sendo avaliados parâmetros como: crescimento, reprodução e desenvolvimento de ovos (KNAPIK.; ANDREATTA, 2013). Através desses testes pode se determinar a Concentração de Efeito Não Observado (CENO) que é a concentração considerada segura do agente químico ou efluente tóxico a ser lançado no ambiente aquático e a Concentração de Efeito Observado (CEO).

A partir da resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA 357/2005 complementada pela resolução 430/2011, os ensaios de toxicidade de efeitos agudos e crônicos foram incluídos para a avaliação da qualidade de efluentes domésticos e industriais para lançamento no ambiente aquático. A legislação anterior, a Resolução CONAMA 20/1986 exigia apenas o monitoramento químico para o controle de poluentes em efluentes líquidos nos corpos hídricos (CALLISTO et al., 2004). A *Environmental Protection Agency* dos Estados Unidos (USEPA, 2002), e a Diretriz da União Europeia também recomendam a utilização de bioindicadores como complemento às informações obtidas com os parâmetros físicos e químicos sobre a qualidade das águas (CALLISTO et al., 2004).

A obrigatoriedade dos ensaios ecotoxicológicos pela legislação é justificada principalmente pelo desequilíbrio ambiental dos ecossistemas, decorrentes do lançamento de efluentes não tratados ou tratados de forma inadequada. A prova disso está na maior redução da biodiversidade dos ecossistemas de água doce em relação aos ecossistemas terrestres

impactados pelas ações antrópicas (SALA et al., 2000).

Neste contexto, a contaminação ambiental tornou-se um problema global crescente que demanda o desenvolvimento de diferentes estratégias científicas para monitorar os danos de poluentes nos ecossistemas aquáticos e os testes ecotoxicológicos são ferramentas úteis e confiáveis para a proteção ambiental de forma preventiva.

3.3 A espécie *D. tigrina* como organismo teste para bioensaios ecotoxicológicos

As planárias são organismos aquáticos, havendo poucos terrestres (SLUYS, 1989), hermafroditas, que realizam fecundação cruzada e são utilizadas como bioindicador de contaminação ambiental, e podem ser encontradas em: poças, riachos, nascentes e mar.

A planária desempenha relevante função nos ecossistemas aquáticos, pois servem de alimento para invertebrados e vertebrados predadores e também são predadoras de pequenos invertebrados, como protozoários, rotíferos, pequenos crustáceos, caramujos e larvas de inseto como do *C. xanthus* (RODRIGUES et al., 2016).

As planárias tem um sistema de células-tronco, o qual é chamado de neoblastos, que são responsáveis pela regeneração de todos os tecidos e a capacidade de originar novos organismos de fragmentos de animais. Um passo fundamental na regeneração da planária é a formação de um blastema por um processo conhecido como epimorfose (NEWMARK.; SÁNCHEZ, 2000).

É relevante destacar que este organismo apresenta sensibilidade a baixas concentrações de toxinas ambientais (NANO et al., 2002; RODRIGUES et al., 2015), possibilitando a avaliação de diferentes parâmetros, tais como, sobrevivência, locomoção, alimentação, reprodução e fertilidade. A planária apresenta morfologia simples, sensibilidade à luz devido aos ocelos, e alta capacidade de se regenerar, em virtude de processos similares aos observados na embriogênese de vertebrados, tais como: proliferação, diferenciação e migração celulares, morfogênese e organogênese (WAGNER et al., 2002).

As planárias decapitadas regeneram rapidamente a cabeça, com 72 a 96 horas nas espécies *Girardia tigrina*, *Girardia chubarti* (KNAKIEVICZ et al., 2006) e *Dugesia etrusca* (CALEVRO et al., 1999). O início da regeneração apresenta divisão de neoblasto ativo e é mantida em altas taxas até reconstituição completa das estruturas perdidas, como olhos e aurículas (NEWMARK.; SÁNCHEZ, 2000). Desse modo, uma melhor compreensão dos efeitos tóxicos das substâncias pode ser observada neste processo, pois a regeneração oferece uma oportunidade para estudar o efeito de toxinas no desenvolvimento de organismos adultos

(CALEVRO et al., 1999; KNAKIEVICZ.; FERREIRA, 2008), demonstrando que compostos que afetam planárias decapitadas no processo de regeneração também afetam o desenvolvimento de vertebrados (BEST.; MORITA, 1992; KALAFATIC et al., 2004).

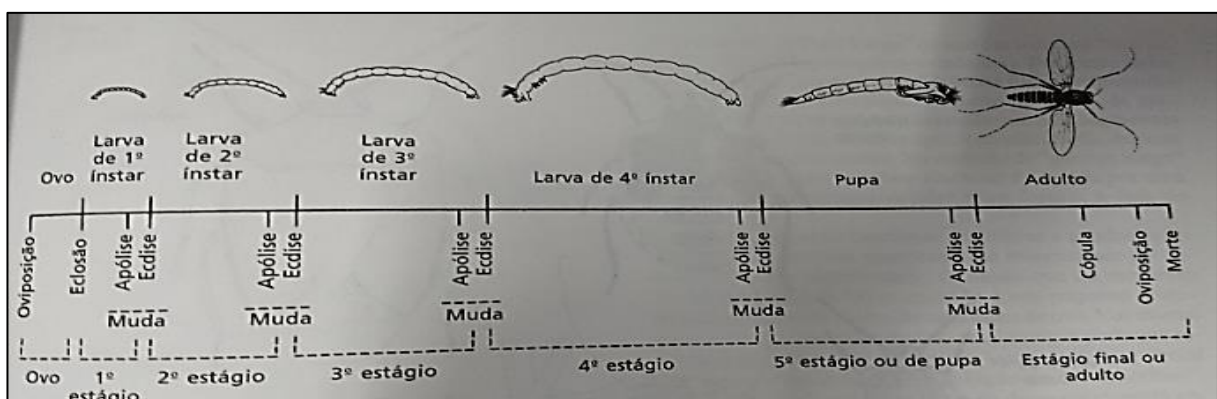
Embora as planárias não sejam modelos em análises ecotoxicológicas, elas tem se mostrado ótimas biondicadoras por apresentarem parâmetros simples para avaliar a locomoção e regeneração (PAGAN et al., 2009; KNAKIEVICZ, 2014). Além disso, ensaios de comportamento predatório podem ser úteis na compreensão dos efeitos sub-letais de contaminantes (RODRIGUES et al., 2016).

3.4 *Chironomus xanthus*

Chironomus xanthus insetos neotropical da família Chironomidae de fácil cultivo, elevada diversidade, habitam ambientes de água parada ou em movimento, e contém hemoglobina que é responsável pelo organismo tolerar ambientes com baixos teores de oxigênio (FARIAS, 2011). A espécie é utilizada como bioindicador, pois executa um papel importante na cadeia alimentar, tem um curto ciclo de vida, e tem se mostrado um organismo sensível a agentes químicos em estudos ecotoxicológicos anteriores (FONSECA.; ROCHA, 2004; DORNFELD, 2006; ZORATTO, 2007; DA COSTA, 2007; CAVALCANTI, 2010).

A massa ovífera, com o formato tubular, rica em nutrientes que serão utilizados pelas larvulas recém-eclodidas, normalmente são encontradas fixas à parede das bandejas de cultivo (STRIXINO, 1980). O ciclo de vida inclui quatro fases: ovoposição, quatro estágios larvais (formado por quatro ínstars) cada ínstar tem uma duração em média de três dias (RODRIGUES et al., 2015). Além de uma fase de pupa, e uma fase terrestre (adulto) com duração entre 13 a 18 dias, como representado na Figura 2.

Figura 2- Detalhes dos ínstars e estágios do *C. xanthus*

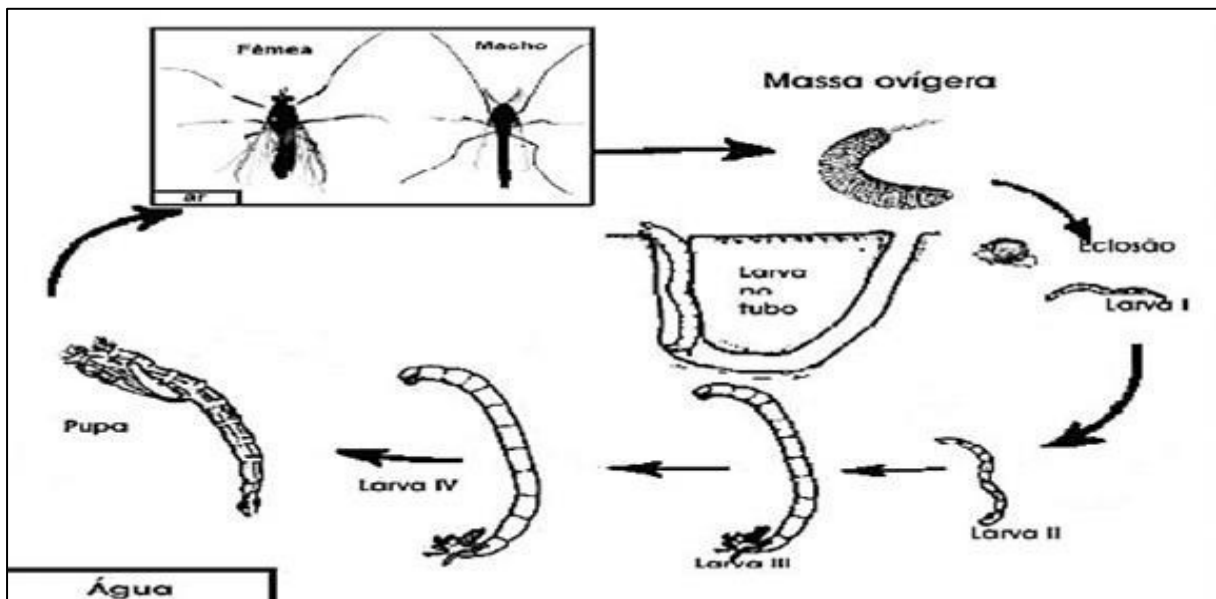


Fonte: GULLAN (2007, p. 125).

Após a maturação da pupa ocorre alteração de sua coloração (castanho escuro). O rompimento do casulo possibilita o seu nado até a superfície da água para que ocorra a emergência. O elevado número de descendentes produzidos é um fator relevante que permite o estabelecimento da cultura em laboratório (DORNFELD, 2006).

Na fase de emergência pode-se verificar um dimorfismo sexual entre os mosquitos (Figura 3). Os machos têm abdômen afilado, e antenas plumulosas, enquanto as fêmeas possuem um alargamento abdominal e antenas simples (DORNFELD, 2006).

Figura 3- Ciclo de vida de *C. xanthus*



Fonte: TRIVINHO-STRIXINO (p. 24, 2011).

Há protocolos internacionais descritos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA, 2002), Sociedade Americana de Testes e Materiais (ASTM, 2004) e Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE, 2004), entre outros, com normas específicas para espécies *C. riparius*, *C. sp* e *C. tentans*, as quais são adaptadas para realização dos ensaios ecotoxicológicos com *C. xanthus*, objetivando a padronização dos parâmetros para avaliação da sobrevivência, o crescimento larval, largura da cabeça, fertilidade, bioacumulação e taxa de emergência (DOMINGUES et al., 2007; PESTANA et al., 2009).

4 METODOLOGIA

Os bioensaios avaliaram o efeito ecotoxicológico agudo e crônico do ácido peracético (CH_3COOOH) e do cloro ativo do hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) em relação aos organismos teste *Dugesia tigrina* e *Chironomus xanthus*.

4.1 Reagentes utilizados

O ácido peracético (APA) avaliado foi o de concentração comercial 15%, o qual corresponde a uma mistura quaternária composta por 15% de ácido peracético, 23% de peróxido de hidrogênio, 16% de ácido acético e água. A solução foi preparada considerando a massa correspondente aos 15% de ácido peracético e a densidade do produto (1,12 g/mL), utilizando 5,9 mL de APA em 1 L de água para o preparo de uma solução de $1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

O hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) utilizado foi o de teor de pureza mínima de 98% e cloro ativo de 65%, assim como para o ácido peracético, o cálculo da concentração das soluções considerou somente o cloro ativo, portanto, para uma solução de 1g de hipoclorito de cálcio 98% em 1 L de água destilada, foram considerados 0,65 g de cloro ativo por litro. A concentração de cloro ativo foi considerada devido à mensuração mais utilizada de desinfetantes clorados que se refere ao cloro residual.

4.2 Bioensaios com *D. tigrina*

A cultura de planárias da espécie *D. tigrina* foi cultivada no Laboratório de Ecotoxicologia (Grupo de pesquisa em Ecologia Funcional e Aplicada) da Universidade Federal do Tocantins (UFT – Campus Gurupi), seguindo os protocolos estabelecidos neste laboratório. A espécie *D. tigrina* foi mantida em caixas de cultura de acordo com a (Figura 4), contendo 1,5 L de meio ASTM (Sociedade Americana de Testes e Materiais), sob aeração constante, mantida em uma sala climatizada a $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Os organismos foram alimentados semanalmente com fígado bovino, com posterior renovação do meio.

Para preparação do meio ASTM adicionaram-se 38,10 g de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) em de 2 L (ASTM-1), 49,14 g de sulfato de magnésio ($\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em 2 L (ASTM-2), 1,60 g cloreto de potássio (KCl) em 2 L (ASTM-3) e 2,40 g de sulfato de cálcio $\text{CaSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ em 1,5 L (ASTM-4), sendo todas as soluções de ASTM inserida em um

recipiente, na qual foram diluídas com água destilada até atingir a capacidade de 20 L . E após o preparo do meio, foi verificado o pH e ajustado para 7,5.

Figura 4- Cultura de planárias



Fonte: A autora (2018).

Para os bioensaios com *D. tigrina* (planária) foram avaliados: efeito letal (CL_{50}) e efeito sub-letal (Alimentação, Locomoção, Regeneração, Fecundidade e Fertilidade).

4.2.1 Avaliação de efeito agudo

Para o teste letal foram selecionados organismos de 0,8 ($\pm 0,1$ cm) de comprimento, privados de alimento por uma semana antes do ensaio ecotoxicológico. Foram realizados experimentos para a avaliação da toxicidade com diferentes concentrações obtidas por meio de doses respostas de ácido peracético e cloro ativo do hipoclorito de cálcio separadamente. Para determinação da concentração aguda que ocasiona letalidade de 50% dos organismos (CL_{50}) foram utilizadas onze concentrações do ácido peracético: 2,25; 2,40; 2,55; 2,70; 2,85; 3; 3,15; 3,30; 3,45; 3,60 e 3,75 $mg.L^{-1}$ e meio ASTM como controle. Para o cloro ativo do hipoclorito de cálcio foram empregados onze tratamentos 0,65; 0,98; 1,30; 1,63; 1,95; 2,28; 2,60; 2,93; 3,25; 3,58; 3,90 $mg.L^{-1}$ e um ensaio somente com o meio ASTM como controle. As soluções foram preparadas a partir da solução estoque $1g.L^{-1}$ de hipoclorito de cálcio com 65% de cloro ativo.

Para cada ensaio foram utilizadas 60 placas de petri ($\varnothing = 90$ mm), sendo cinco réplicas para cada concentração (contendo cinco planárias) em cada tratamento, contendo 20 mL de solução experimental, totalizando 300 organismos para cada teste.

Os organismos foram expostos por 96 horas em sistema estático, no escuro e sem alimentação. Dessa forma, a mortalidade foi verificada após 24, 48 e 96 horas de exposição por contagem do número de organismos estáticos/mortos em cada repetição, a fim de determinar a CL_{50} . Os parâmetros físico-químicos como oxigênio dissolvido, pH,

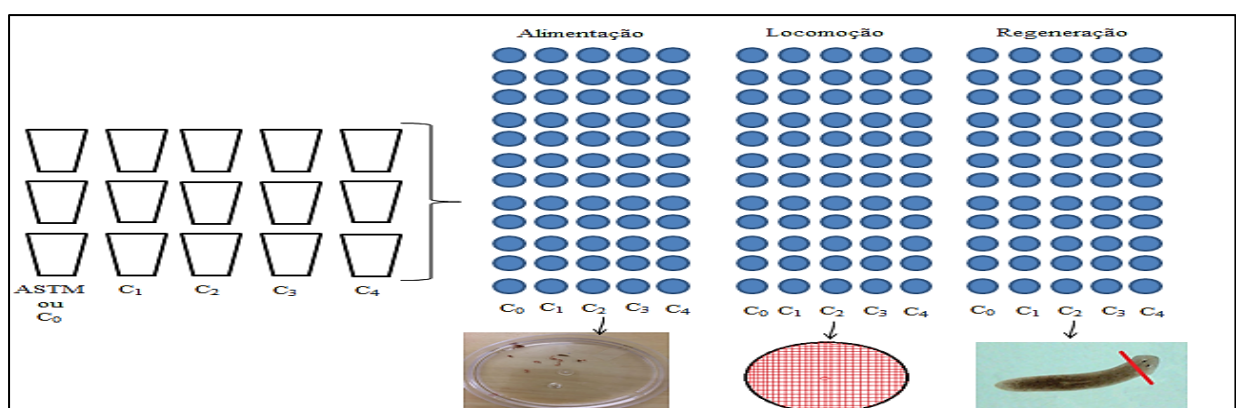
condutividade e temperatura foram mensurados a partir das soluções experimentais de cada concentração.

4.2.2 Avaliação de efeitos crônicos

Foram selecionadas planárias de 0,8 (\pm 0,1) cm de comprimento, as quais foram expostas durante 8 dias a cinco tratamentos (concentrações nominais), sendo quatro concentrações definidas a partir de 10% do valor de CL_{50} e mais controle em ASTM. As planárias foram inseridas em frascos de vidro com 100 mL de solução experimental. A exposição foi feita em ambiente controlado a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, em sistema estático e no escuro. Para APA foram utilizadas concentrações de fator 1,25 de 162; 202; 252; 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$ mais um ensaio controle em meio ASTM, e para o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, foram utilizadas as concentrações de fator de 1,25 de 134; 168; 210; 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e o controle.

Para cada tratamento, conforme a Figura 5 foram feitas três réplicas, contendo 12 organismos, sendo cinco concentrações distintas, totalizando 180 organismos. Assim, no oitavo dia foram retirados de cada concentração de forma aleatória 4 planárias de cada frasco, totalizando 12 planárias, as quais foram utilizadas para o ensaio de locomoção. Da mesma forma procedeu-se para seleção de 12 planárias para o ensaio de regeneração e de alimentação.

Figura 5- Design experimental do teste crônico alimentação, locomoção e regeneração



Fonte: A autora (2018).

4.2.2.1 Avaliação do efeito na atividade alimentar

Para o teste de alimentação pós-exposição foram avaliadas 60 planárias em placas de petri ($\varnothing = 90$ mm) com 20 mL de meio ASTM (ASTM, 2004). Sendo uma planária em cada placa, com 25 larvas vivas de *C. xanthus* (6 dias de idade, 2^a instar), totalizando 1500 larvas.

A taxa de alimentação foi definida pela quantidade de larvas de *C. xanthus* ingeridas por planária durante 3 horas Figura 6.

Figura 6- Avaliação do teste crônico alimentação

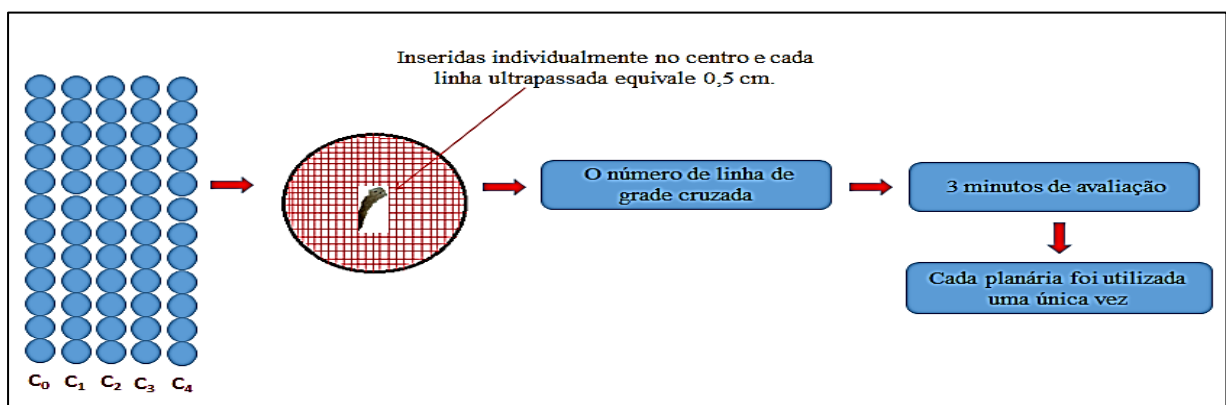


Fonte: A autora (2018).

4.2.2.2 Avaliação do efeito na locomoção

Após exposição, atividade locomotora foi medida de acordo com Raffa, Hollande e Schulingkamp (2001) e Pagan, Coudron e Kaneria (2009) com algumas modificações. Em que sessenta planárias foram dispostas, individualmente, em recipiente de alumínio de 75 cm de diâmetro, contendo papel milimétrico ao fundo e meio ASTM em quantidade que favorecesse a locomoção do organismo. Os organismos foram colocados no centro do papel milimétrico, possibilitando sua livre locomoção. Cada linha ultrapassada no papel milimétrico equivale a 0,5 cm, ao passo que o $pLMV$ (número de linhas cruzadas) foi determinado ao final de 3 minutos de avaliação, sendo que cada planária foi utilizada uma única vez. O número de linhas e o tempo foram monitorados Figura 7.

Figura 7- Avaliação do teste crônico locomoção

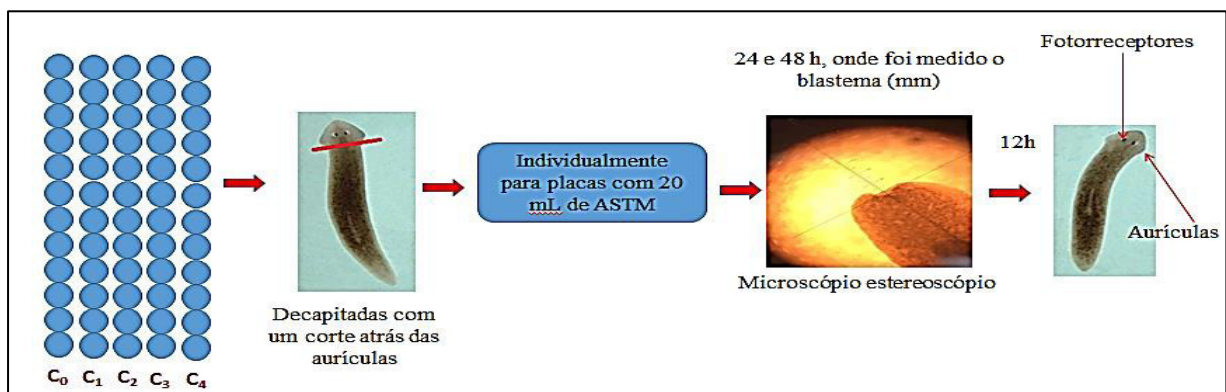


Fonte: A autora (2018).

4.2.2.3 Avaliação do efeito na regeneração

Ensaio de regeneração foi feito de acordo com Pearl et al. (2016) com algumas adaptações. Assim, após a exposição de 12 planárias para cada tratamento (totalizando 60) as mesmas foram decapitadas com um único corte atrás das aurículas com lâmina de bisturi previamente esterilizadas. Após a decapitação, as planárias foram transferidas, individualmente, para placas de petri com 20 mL de meio ASTM. A avaliação foi realizada após 24 horas e 48 horas, em que foi medido o comprimento do blastema (mm), e a cada 12 horas foi verificado a formação de fotorreceptores, aurículas e anormalidades com auxílio de um microscópio estereoscópio. Os resultados foram relatados com o tempo médio em horas para regeneração de fotorreceptores e aparecimento de aurículas Figura 8.

Figura 8- Avaliação do teste crônico regeneração



Fonte: A autora (2018).

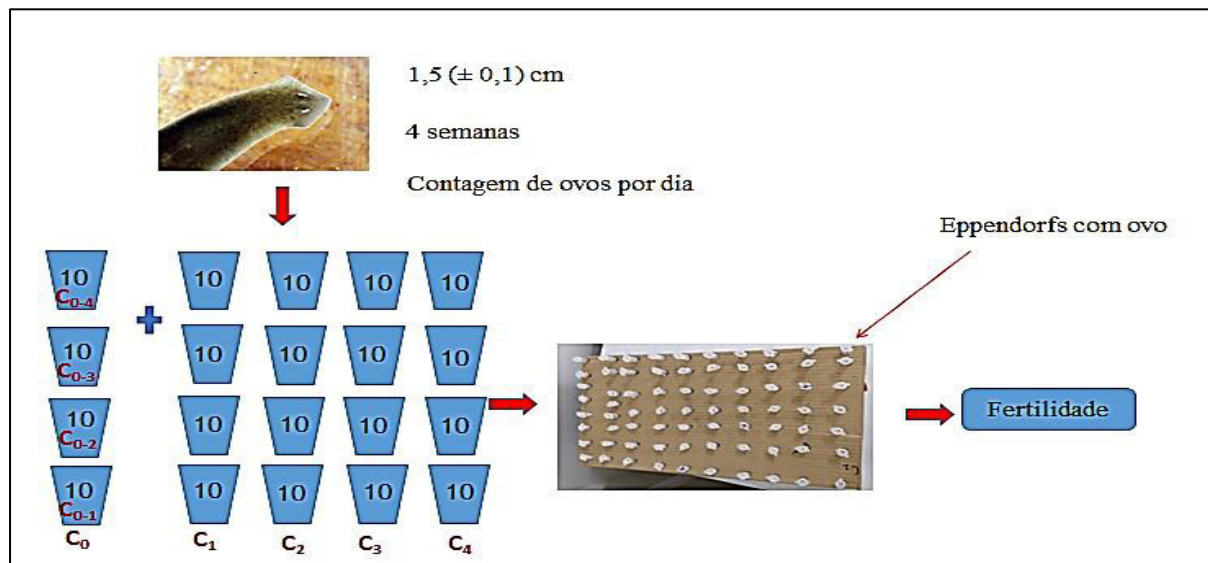
4.2.2.4 Avaliação do efeito na reprodução

Planárias adultas no início da idade reprodutiva ($1,5 \pm 0,1$ cm de comprimento total) foram selecionadas e expostas por quatro semanas para a realização da contagem de ovos por dia. O planejamento experimental consistiu de cinco tratamentos na Figura 9, as mesmas concentrações utilizadas no teste de alimentação, locomoção e regeneração, sendo 4 réplicas com 10 organismos, expostos em frascos de vidro de 200 mL contendo 100 mL de solução experimental, a qual foi substituída a cada semana por uma nova solução e frasco, após alimentação com fígado bovino. A cada troca de cultura os parâmetros pH, oxigênio dissolvido, condutividade eram mensurados. Os organismos foram mantidos a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro.

Durante a exposição foi avaliado o número de casulos por dia, sendo relevante destacar que cada ovo foi separado por concentrações em *ependorfs*, sendo indicada a data da coleta, a concentração e a réplica correspondente (1, 2, 3 ou 4).

A taxa de fecundidade (Fc) foi determinada pelo número de ovos produzidos por dia, dividido pelo número de planárias expostas. E a fertilidade foi avaliada durante quatro semanas para contagem do número de planárias filhas e os valores divididos pela quantidade de planárias expostas.

Figura 9- Avaliação do teste crônico reprodução



Fonte: A autora (2018).

4.2.3 Análise estatística para os ensaios com *D. tigrina*

A CL_{50} de 96 h para o APA e o cloro ativo de $Ca(ClO)_2$ utilizando o organismo *Dugesia tigrina* foi estimada por análise de dose-resposta utilizando uma curva logística de quatro parâmetros: $Y = \text{Inferior} + (\text{TopBottom}) / (1 - 10^{((\text{Log}LC_{50}-x) * \text{HillSlope})})$. A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste de Kolmogorov-Smirnov e homogeneidade de variância foi testada pelo teste de Bartlett. Os ensaios de alimentação, locomoção, regeneração, fecundidade e fertilidade foram feitas por análise de variância (ANOVA), seguido pela comparação múltipla, conforme o teste *post-hoc* de Dunnett. Para todos os testes estatísticos, o nível de significância foi fixado em $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA) com os resultados expressos pela média \pm SEM.

4.3 Bioensaios com *C. xanthus*

A espécie *C. xanthus* é cultivada no laboratório de Ecotoxicologia (Grupo de pesquisa em Ecologia Funcional e Aplicada) da Universidade Federal do Tocantins (UFT – Campus Gurupi). A cultura de *C. xanthus* foi estabelecida com base em protocolos já definidos para espécies de família Chironomidae.

Os organismos foram mantidos em recipientes de plásticos contendo $\frac{3}{4}$ de meio ASTM e $\frac{1}{4}$ de sedimento fino inorgânico (≤ 1 mm), sob aeração controlada dentro de gaiolas, de acordo com (Figura 10). Os organismos de *C. xanthus* foram mantidos em uma sala climatizada a $22 \pm 1^\circ\text{C}$ com um fotoperíodo de 12:12h luz e escuro (ASTM, 1980). Alimentados três vezes por semana com ração de peixe macerado (TetraMin[®], Tetrawerke, Melle, Alemanha).

Figura 10- Gaiola de criação específica para *C. xanthus*



Fonte: A autora (2018).

Para os bioensaios com *C. xanthus* foram avaliados: efeito agudo (CL₅₀) e efeito crônico, sendo avaliado o desenvolvimento dos organismos, quanto: crescimento do corpo, largura da cabeça e emergência dos indivíduos da fase larval a fase adulta.

4.3.1 Avaliação de efeito agudo com *C. xanthus*

O efeito agudo para determinação da CL₅₀ foi avaliado seguindo as orientações da OCDE 235 (OCDE, 2011). Larvas de primeiro ínstar de *C. xanthus* (24h de idade) foram expostas às concentrações de APA, cloro ativo do hipoclorito de cálcio e (ASTM) como controle, durante 24 e 48 horas. As concentrações foram diluídas a partir de solução estoque, sendo relevante destacar que a diluição foi realizada em meio ASTM.

Os experimentos para a avaliação da toxicidade aguda com diferentes concentrações de ácido peracético e cloro ativo de hipoclorito de cálcio foram realizadas separadamente. Para o

teste agudo, o APA foi avaliado em 10 concentrações: 3,5; 6; 8,5; 11; 13,5; 16; 18,5; 21; 23,5; 26 mg.L⁻¹ e um ensaio somente com o controle (meio ASTM). O cloro ativo do hipoclorito de cálcio foi avaliado em 10 concentrações: 0,33; 0,49; 0,65; 0,81; 0,98; 1,14; 1,30; 1,46; 1,63; 1,79 mg.L⁻¹ e o ensaio controle.

Para este teste foram utilizadas placas de petri ($\varnothing = 46$ mm), contendo 5 larvas do organismo e 20 mL da solução em cada, foram avaliadas 10 concentrações diferentes dos agentes químicos e o controle, todos com 5 réplicas.

O ensaio foi realizado a uma temperatura média de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, sem fornecimento de alimento, sedimento e aeração. Durante o desenvolvimento do ensaio foi avaliada mortalidade ou imobilidade dos organismos para a determinação da (CL_{50}) com base nas concentrações de APA e hipoclorito de cálcio seguindo o protocolo.

4.3.2 Avaliação de efeitos crônicos para *C. xanthus*

Para a realização do teste crônico, foram utilizadas concentrações definidas a partir de 10% do valor de CL_{50} encontrada no teste agudo dos compostos APA e cloro ativo de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, utilizando larvas de primeiro instar (48 horas de idade) OCDE 219 (OCDE, 2004). Para o teste com APA as larvas foram expostas às concentrações de 749,4; 936,8; 1171; 1464 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de fator de 1,25, e para o cloro ativo de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foram avaliadas as concentrações de 52; 65; 82; 102 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de fator de 1,25, preparadas, ambas utilizaram ASTM como controle. Frascos de vidros com capacidade de 200 mL foram utilizados, seguindo as orientações da OCDE 219 (OCDE, 2004), preenchidos com 25 g de sedimento inorgânico fino ≤ 1 mm previamente queimado a 500°C por 5 horas para retirada da matéria orgânica e 150 mL de soluções experimentais aeradas.

Para cada tratamento (Figura 11) foram realizadas 10 repetições com cinco organismos em cada frasco. Após 10 dias, as larvas de chironomus foram coletadas de 5 réplicas por tratamento e armazenado em etanol (70%) para posterior medição do comprimento do corpo (mm) e largura da cabeça (mm) em um microscópio estereoscópico.

As 5 repetições restantes de cada tratamento foram avaliadas até o vigésimo oitavo dia, sendo contabilizadas diariamente a emergência e o sexo dos insetos. A contagem de sexo dos indivíduos acontece após o período de ecdise, quando há a diferenciação dos indivíduos através de características corporais próprias de cada sexo. Durante todo o período de exposição, o alimento (TetraMin®) foi fornecido a cada dois dias ($0,5$ mg larva⁻¹dia⁻¹) e os

parâmetros físico-químicos foram monitorados por 3 vezes ao longo do experimento (pH, temperatura, condutividade e oxigênio dissolvido) OCDE 219 (OCDE, 2004).

Figura 11- Teste crônico *Chironomus xanthus*



Fonte: A autora (2018).

4.3.3 Análise estatística para os ensaios com *C. xanthus*

A CL_{50} de 48 horas para o APA e o cloro ativo de $Ca(ClO)_2$ utilizando o organismo *C. xanthus* foi estimada por análise de dose-resposta utilizando uma curva logística de quatro parâmetros: $Y = \text{Inferior} + (\text{TopBottom}) / (1 + 10^{((\text{Log}LC_{50}-x) * \text{HillSlope}))}$. A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste de Kolmogorov-Smirnov e homogeneidade de variância foi testada pelo teste de Bartlett. O Crescimento e a largura da cabeça, foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguida de Testes *post-hoc* de Dunnett. Para todos os testes estatísticos, o nível de significância foi fixado em $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, Califórnia, EUA) com os resultados expressos pela média \pm SEM.

5 RESULTADOS

5.1 Efeito agudo para *D. tigrina* após exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

Os valores da CL_{50} para o APA e o cloro ativo do hipoclorito de cálcio em relação ao organismo *D.tigrina* são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Resultado do teste agudo com planárias com limite de confiança de 95%

Desinfetante - Exposição (h)	CL_{50}	Mínimo e Máximo
APA - 96	3,16 mg.L^{-1}	3,10 - 3,21 mg.L^{-1}
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ - 96	2,63 mg.L^{-1}	2,52 - 2,74 mg.L^{-1}

Fonte: Dados da pesquisa (2018).

Ressalva-se que no final da exposição, não houve mortalidade no tratamento controle, ou quaisquer outras alterações morfológicas ou comportamentais nos organismos. Sendo relevante destacar que nas concentrações iniciais não foi observado mortalidade, todavia, nas concentrações maiores ocorreram deformações corporais seguidas de desintegração total do corpo.

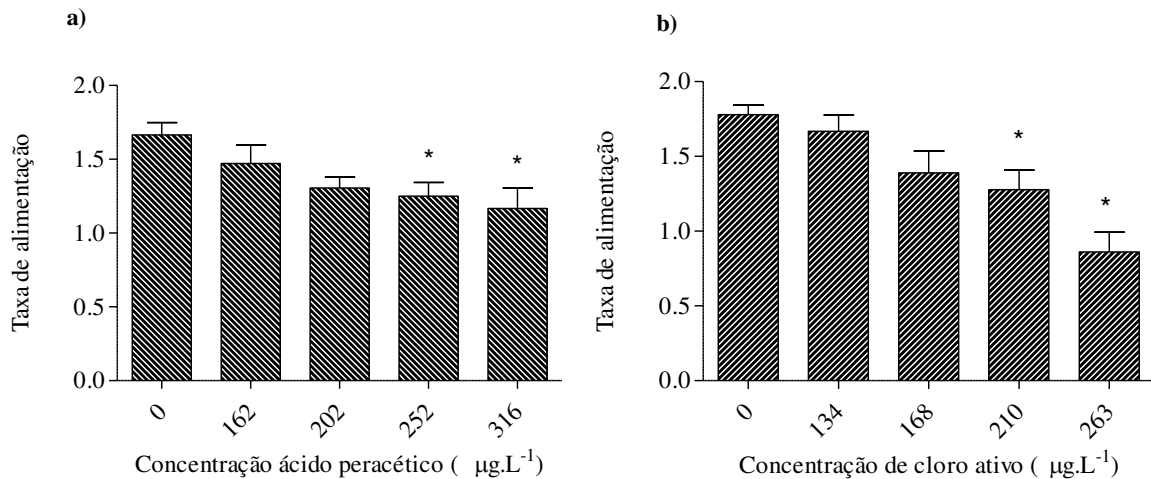
5.2 Efeitos crônico a *D. tigrina* após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

5.2.1 Efeito na atividade de alimentação de *D. tigrina* após exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A alimentação de *D. tigrina* foi significativamente reduzida pela exposição ao APA (Figura 12-a) com a menor concentração de efeito observado (LOEC) igual a 252 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A diminuição da alimentação foi dependente do aumento das concentrações, apresentando reduções de 25,15% e de 30% nas concentrações de APA de 252 e 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

Já a taxa de alimentação de *D. tigrina*, conforme o teste de Dunnett (Figura 12-b), diminuiu pela exposição ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, sendo observada LOEC de 210 $\mu\text{g.L}^{-1}$, com redução de 28,09% na concentração de 210 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e 51,69% na concentração de 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$.

Figura 12- a) Atividade alimentar de *D. tigrina*, com a exposição de larvas de *C. xanthus* durante 3h a concentrações de APA, valores representados de larvas consumidas por 1h ($F_{4,55} = 3,502, p < 0,05$). **b)** Taxa alimentar de *D. tigrina*, com a exposição de larvas de *C. xanthus* consumidas durante 3 h a concentrações de cloro ativo de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, valores de larvas consumidas por 1h ($F_{4,55} = 9,116, p < 0,05$). *Denota uma diferença significativa comparada ao controle, (teste de Dunnett, $p < 0,05$)

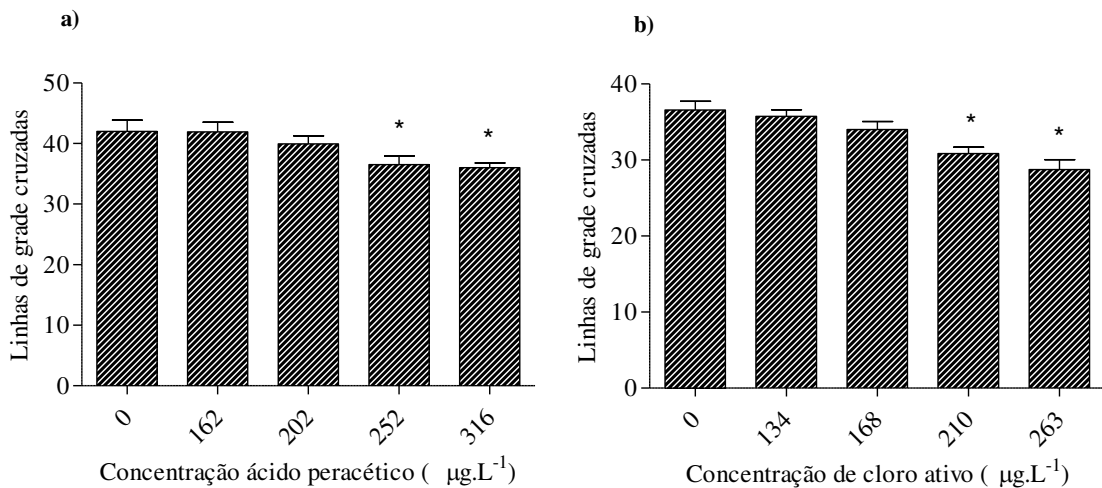


5.2.2 Efeito na locomoção de *D. tigrina* após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A velocidade locomotora (pLMV) de *D. tigrina* medida pela contagem de número de linhas cruzadas após à exposição ao APA (Figura 13-a) apresentou LOEC igual a 252 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondendo a uma redução de 13,1% da velocidade de locomoção. Na concentração de 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a redução foi de 14,29%.

Em relação ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ (Figura 13-b), apresentou LOEC de 210 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondendo a uma redução de 15,72% de sua velocidade em relação ao controle após à exposição ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$. Na concentração de 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$ houve uma diminuição de 21,41% de acordo com teste de Dunnett.

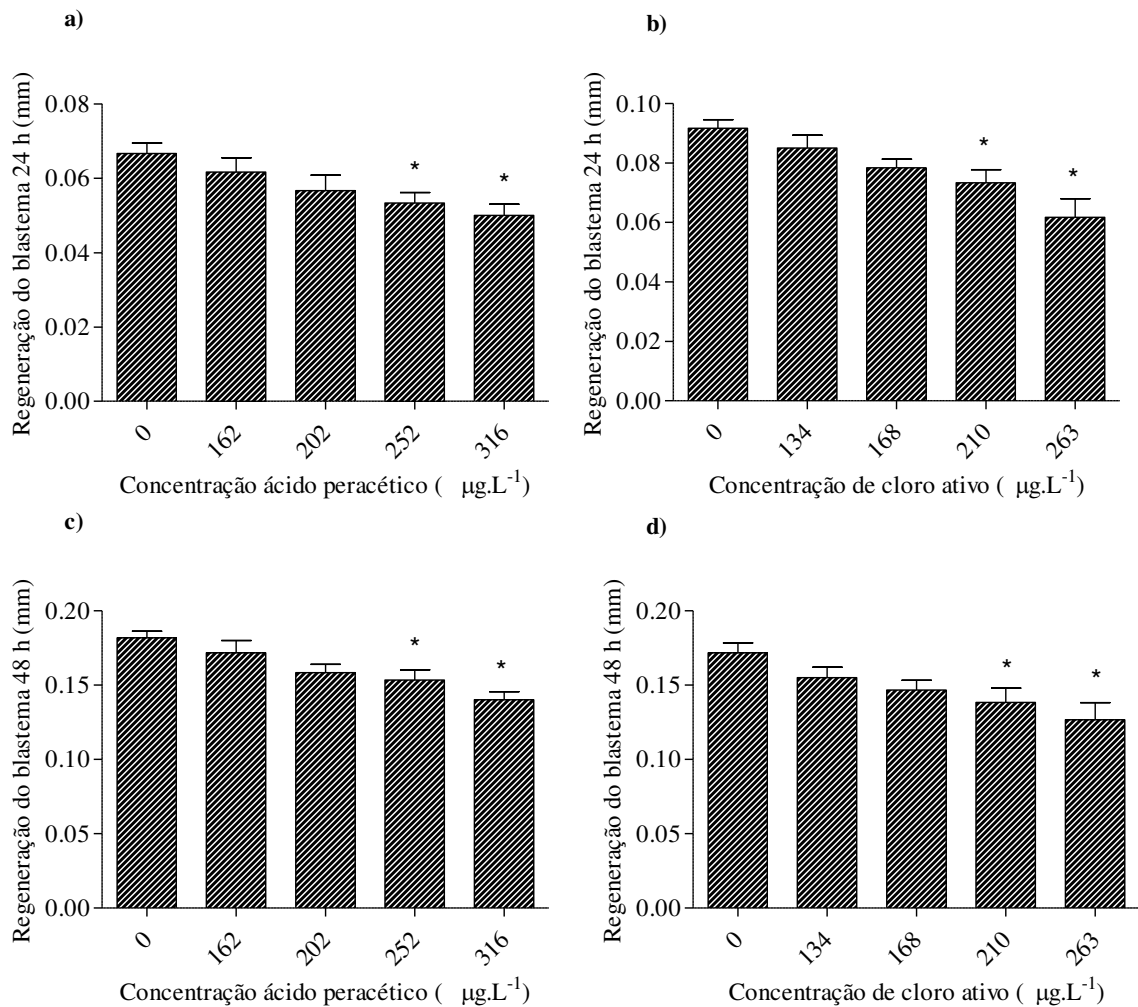
Figura 13- a) Atividade locomotora de *D. tigrina*, contagem do número de linhas de grade cruzadas ao longo de 3 min de exposição ao APA ($F_{4,55} = 3,833, p < 0,05$). **b)** Atividade locomotora de *D. tigrina*, utilizando o mesmo protocolo para o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ($F_{4,55} = 9,983, p < 0,05$). Os dados são apresentados com média \pm SEM, n=12. *Denota uma diferença significativa comparada ao controle, (teste de Dunnett, $p < 0,05$)



5.2.3 Efeitos na regeneração de *D. tigrina* após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A regeneração do blastema após 24 h, apresentou LOEC de 252 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 14-a), correspondendo a um atraso no tempo de regeneração de 20,90% e 25,37% nas concentrações de 252 e 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente, em relação ao ensaio controle. Com o cloro ativo após a exposição de 24 h, foi observada LOEC de 210 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 14-b), correspondente a um atraso de 20,65% e de 32,61% para a concentração de 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Após a exposição às 48h o atraso na regeneração atingiu 19,77% e 26,16%, respectivamente para o APA (Figura 14-c) e para o cloro ativo observou-se um atraso de 15,93% e 23,07% (Figura 14-d).

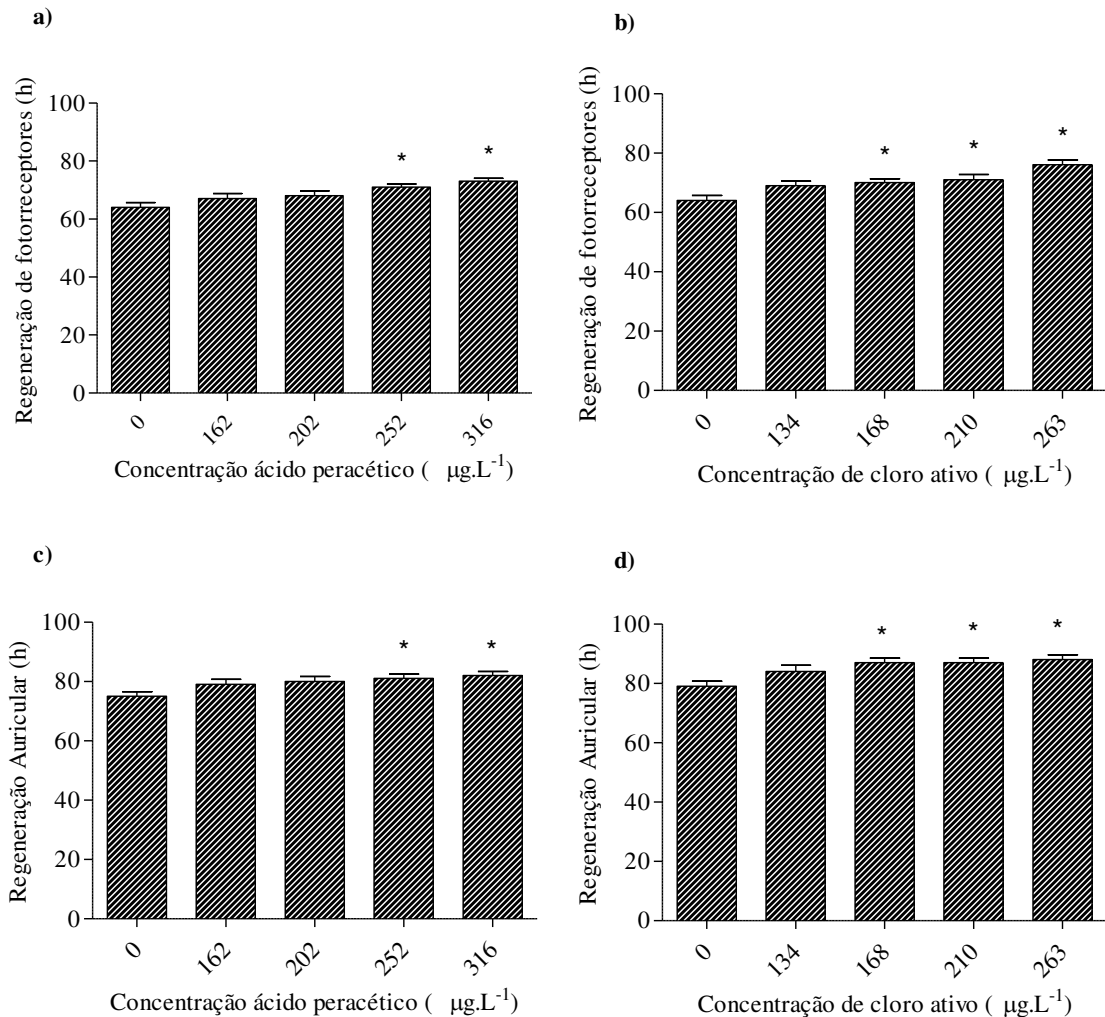
Figura 14- a) Regeneração do blastema com 24h ao APA ($F_{4,55} = 3,828$, $p < 0,05$). b) regeneração do blastema com 24h ao cloro ativo ($F_{4,55} = 6,832$, $p < 0,05$). c) regeneração do blastema com 48h ao APA ($F_{4,55} = 6,141$ $p < 0,05$). d) regeneração do blastema com 48h do cloro ativo ($F_{4,55} = 3,937$, $p < 0,05$)



Em relação ao aparecimento dos fotorreceptores após a exposição nas concentrações de APA de 252 e 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$, foi observado um atraso de 10,94% e 14,06% (Figura 15-a), quanto ao aparecimento dos fotorreceptores, para o cloro ativo foi observada uma LOEC de 168 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondente a um atraso de 9,38%, e para a concentração de 210 $\mu\text{g.L}^{-1}$ foi observado um atraso de 10,94% e de 18,75% em relação a concentração de 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de cloro ativo (Figura 15-b).

O atraso no aparecimento das aurículas ocorreu após a exposição nas concentrações de APA de 252 e 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$, atingindo 8% e 9,33% em comparação os tratamentos com o controle, respectivamente (Figura 15-c). Já para cloro ativo a formação das aurículas foi observada na LOEC de 168 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com redução de 10,13%, para os tratamentos com 210 e 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$ as reduções foram de 10,13% e 11,39%, respectivamente (Figura 15-d).

Figura 15- **a)** Representação em horas para formação de fotorreceptores após a exposição APA ($F_{4,55} = 5,591, p < 0,05$). **b)** Formação de fotorreceptores após a exposição ao cloro ativo ($F_{4,55} = 0,3364, p < 0,05$). **c)** Formação de aurículas em relação ao APA ($F_{4,55} = 2,848, p < 0,05$). **d)** Formação de aurículas após exposição do cloro ativo ($F_{4,55} = 4,393, p < 0,05$) Média \pm SEM, n=12. *Denota uma diferença significativa comparada ao controle (teste de Dunnett, $p < 0,05$)

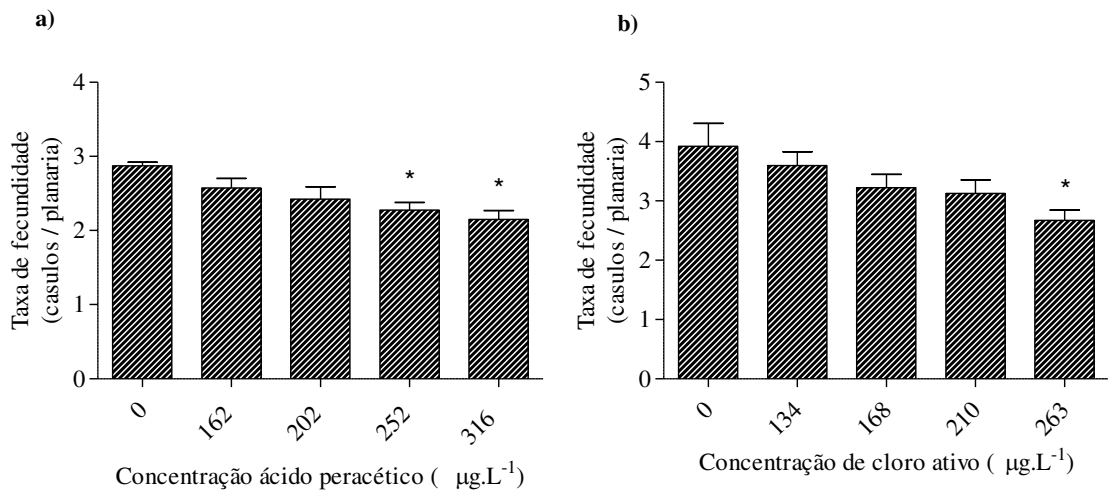


5.2.4 Efeito na reprodução de *D. tigrina* após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A taxa de fecundidade de *D. tigrina* foi significativamente afetada após a exposição ao APA, apresentando LOEC de $252 \mu\text{g.L}^{-1}$ com redução de 20,87% e de 25,22% após a exposição a concentração de $316 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 16-a).

Analisando o número de cáslulos no ensaio com o cloro ativo do hipoclorito de cálcio na concentração de $263 \mu\text{g.L}^{-1}$ pode-se observar uma redução de 31,85% da fecundidade do organismo teste (Figura 16-b).

Figura 16- a) Fecundidade de *D. tigrina* em quatro semanas de exposição APA ($F_{4,15} = 5,661$, $p < 0,05$). **b)** E o valor referente ao cloro ativo ($F_{4,15} = 3,444$, $p < 0,05$). * Denota diferença significativa em relação ao tratamento controle (teste de Dunnett, $p < 0,05$)

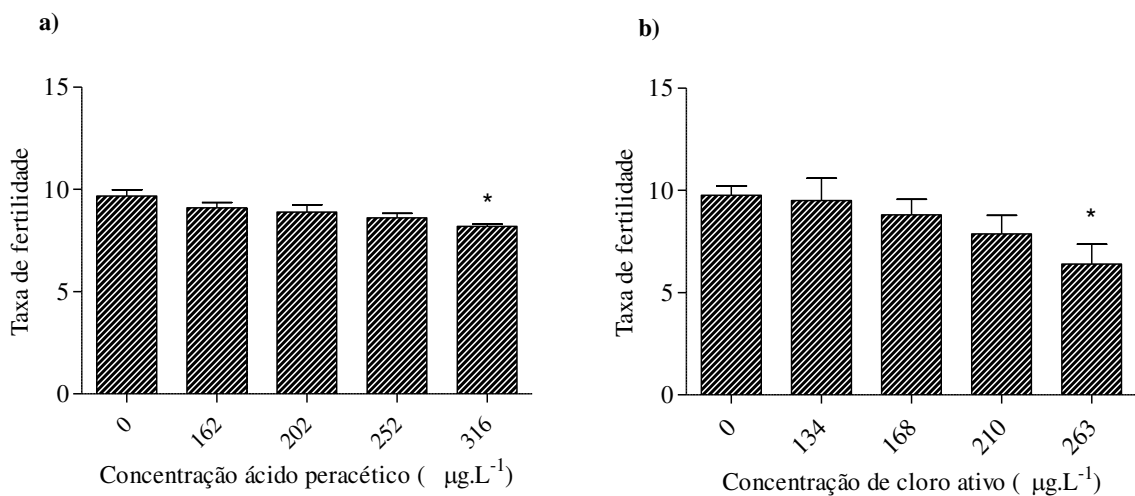


5.2.5 Efeito na fertilidade de *D. tigrina* após a exposição ao APA e ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A taxa de fertilidade de *D. tigrina* após a exposição ao composto APA (Figura 17-a) com LOEC de $316 \mu\text{g.L}^{-1}$. Exibindo uma redução de 15,46% na concentração de $316 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Avaliando o número de planárias que saíam de cada casulo, após exposição ao cloro ativo do hipoclorito de cálcio com LOEC de $263 \mu\text{g.L}^{-1}$, teve uma redução de 34,69% quando comparado com tratamento controle (Figura 17-b).

Figura 17- a) Fertilidade de *D. tigrina* em quatro semanas de exposição ao APA ($F_{4,15} = 3,441$, $p < 0,05$). **b)** E o valor referente ao cloro ativo ($F_{4,15} = 2,515$, $p < 0,05$). * Denota diferença significativa em relação ao tratamento controle (teste de Dunnett, $p < 0,05$)



5.3 Efeito agudo para *C. xanthus* após a exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

Os valores de (CL_{50}) para APA e cloro ativo de $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ utilizando o organismo teste *C. xanthus*, tabela 2.

Tabela 2- Resultado do teste agudo com *C. xanthus*, com limite de confiança de 95%

Desinfetante - Exposição (h)	CL_{50}	Mínimo e Máximo
APA - 48	14,64 mg.L^{-1}	13,24 - 16,20 mg.L^{-1}
$\text{Ca}(\text{ClO})_2$ - 48	1,02 mg.L^{-1}	0,95 - 1,09 mg.L^{-1}

Fonte: Dados da pesquisa (2018).

Para as concentrações inferiores a CL_{50} não foi observada mortalidade. No entanto, nos tratamentos com concentrações maiores ocorreram deformações corporais seguidas de desintegração total do corpo.

5.4 Efeito crônico ao *C. xanthus* após a exposição ao APA e ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

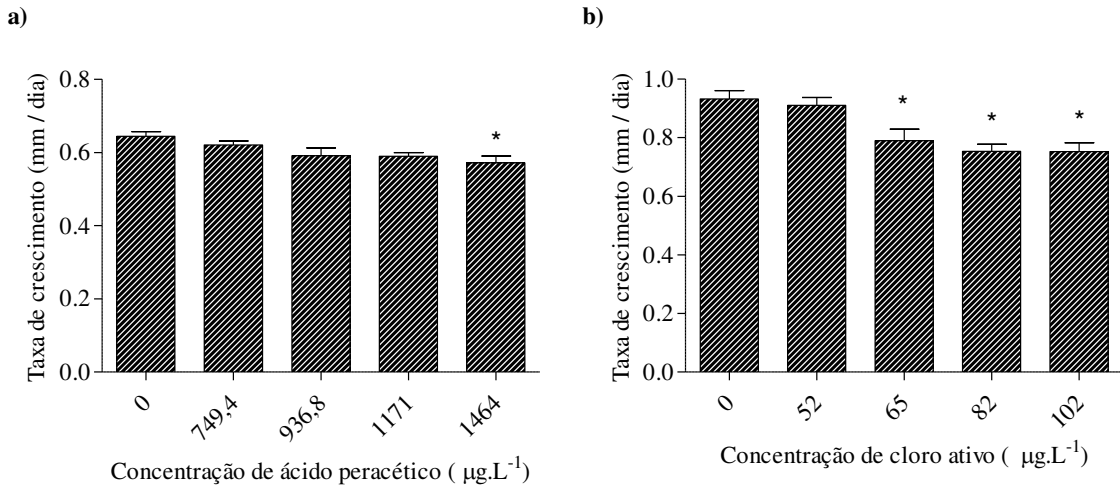
Foram realizados ensaios com APA e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ de forma separada para a avaliação dos efeitos crônicos após a exposição do organismo *C. xanthus* a estes compostos. Foram empregados para este teste os parâmetros: comprimento do corpo, largura da cabeça, emergência acumulativa.

5.4.1 Crescimento do corpo e largura da cabeça do *C. xanthus* após a exposição ao APA

A exposição ao APA afetou a taxa de crescimento das larvas de *C. xanthus* após 10 dias (Figura 18-a), apresentando LOEC de 1464 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondendo a uma redução de 11,80% quanto ao comprimento do corpo em comparação com o tratamento controle.

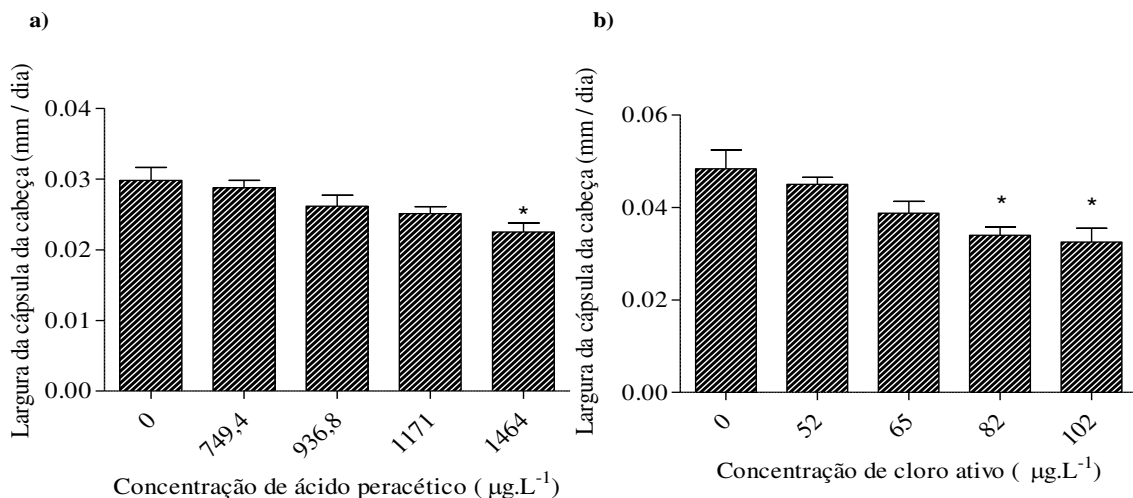
Considerando a concentração de cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ a LOEC observada foi de 65 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 18-b). O decréscimo quanto ao tamanho do corpo foi de 15,33%, 19,19% e 19,29%, respectivamente nas concentrações de 65, 82 e 102 $\mu\text{g.L}^{-1}$, quando comparadas com tratamento controle.

Figura 18- a) Efeitos da exposição ao APA sobre taxa de crescimento de *C. xanthus* (mm / dia; média \pm SEM) ($F_{4,20} = 3,435$, $p < 0,05$). **b)** Consequência da exposição ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ sobre taxa de crescimento de *C. xanthus* (mm / dia; média \pm SEM) ($F_{4,20} = 8,282$, $p < 0,05$). parâmetros avaliados após 10 dias de exposição. *denotam diferenças significativas em relação ao tratamento controle ($p < 0,05$, teste de Dunnett)



Em relação à largura da cabeça a LOEC também foi de $1464 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 19-a), correspondendo a uma redução de 23,33%. Para o cloro ativo a diferença significativa na largura da cabeça das larvas (LOEC) ocorreu na concentração de $82 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 19-b). O decréscimo quanto a largura da cabeça foi de 29,17% e 31,25%, nas concentrações 82 e $102 \mu\text{g.L}^{-1}$, relativamente, em relação ao controle. Todas as larvas tanto as expostas ao APA quanto as expostas ao cloro ativo do hipoclorito de cálcio foram encontradas vivas nos tratamentos após os 10 dias de exposição.

Figura 19- a) C. largura da cápsula da cabeça de *C. xanthus* após exposição ao APA ($F_{4,20} = 4,471$, $p < 0,05$). **b)** C. largura da cápsula da cabeça de *C. xanthus* após ao cloro ativo ($F_{4,20} = 6,273$, $p < 0,05$). (mm / dia; média \pm SEM) parâmetros avaliados após 10 dias de exposição. *denotam diferenças significativas em relação ao tratamento controle ($p < 0,05$, teste de Dunnett)

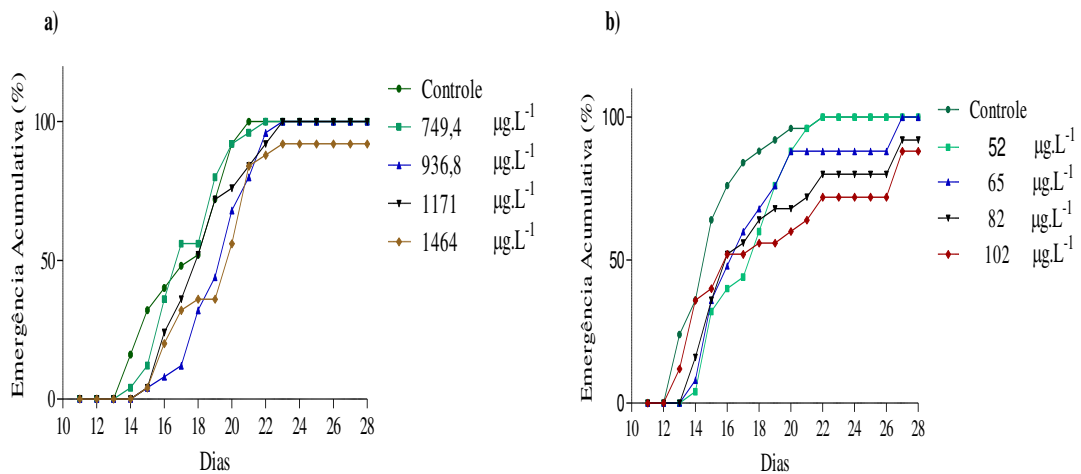


5.4.2 Emergência do *C. xanthus* após exposição ao APA ao cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

A porcentagem de emergência atingiu 100% no tratamento controle, atendendo aos requisitos determinado pela OECD (2004). Nos tratamentos utilizando as concentrações de 749,4, 936,8 e 1171 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de APA obtiveram-se uma taxa de emergência de 100%, e para concentração 1464 $\mu\text{g.L}^{-1}$ obteve-se uma taxa média de emergência de 92% (Figura 20-a).

Para os testes com cloro ativo do hipoclorito de cálcio a emergência foi observada nas concentrações de 52 e 65 $\mu\text{g.L}^{-1}$ com uma taxa de emergência de 100%. Apesar de não ter apresentado uma redução da taxa de emergência estatisticamente significativa, a concentração de 82 $\mu\text{g.L}^{-1}$ apresentou emergência de 92% e a concentração de 102 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de 88% comparado ao tratamento controle (Figura 20-b).

Figura 20- a) A porcentagem de emergência acumulativo de *C. xanthus* foram obtidas através da divisão do número de mosquitos adultos pelo número de larvas introduzidas expostas ao APA ($F_{4,20} = 1,000$, $p > 0,05$). **b)** Percentual de emergência acumulativo de *C. xanthus* foram obtidas através da divisão do número de mosquitos adultos pelo número de larvas introduzidas ($F_{4,20} = 2,639$, $p > 0,05$). Os parâmetros foram avaliados após 28 dias de exposição ($p < 0,05$, teste de Dunnett).



6 DISCUSSÃO

De forma geral, ambos os desinfetantes provocaram toxicidade aos invertebrados *D. tigrina* (planária) e *C. xanthus*, no entanto, foi observada maior sensibilidade dos organismos para o cloro ativo do hipoclorito de cálcio.

O bioensaio para avaliação do efeito agudo (CL_{50}) após a exposição de 96h aos agentes químicos, APA e $Ca(ClO)_2$, utilizando o organismo *D. tigrina* apresentaram, respectivamente, os valores de $3,16 \text{ mg.L}^{-1}$ e $2,63 \text{ mg.L}^{-1}$. Quanto a esta avaliação foi possível observar que o cloro ativo apresentou maior efeito agudo em relação à planária, no entanto, os bioensaios crônicos são necessários para a avaliação mais completa dos compostos.

De acordo com os resultados alcançados nos testes crônicos, pode-se observar que a exposição às concentrações de 252 e $316 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de APA provocaram uma redução na taxa de alimentação, respectivamente de 25,15% e 30%, que pode ser justificada pela redução da atividade locomotora, a qual foi reduzida em 13,1% e 14,29%, respectivamente.

Já em relação ao cloro ativo observou-se uma maior redução na taxa de alimentação nas concentrações de 210 e $263 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, ou seja, menores que as obtidas no teste com APA, as quais corresponderam a uma redução na alimentação de 28,09% e 51,69% e na locomoção de 15,72% e 21,41%, respectivamente. Dessa forma, pode-se notar que esse composto apresentou toxicidade maior quando comparado ao APA nos testes de alimentação e locomoção.

A diminuição na taxa alimentar das planárias, após a exposição aos compostos APA e ao cloro ativo do $Ca(ClO)_2$, pode ter ocorrido por consequência da inibição locomotora, pois segundo Yu et al. (2013) o desempenho predatório envolve o sistema nervoso e a capacidade de sentir, localizar e capturar presas (INOUE et al., 2015). Essa limitação pode estar vinculada a alterações das superfícies corporais e neurotoxicidade relacionada à exposição aos agentes químicos, isso porque, elas se movimentam deslizando e esta atividade é puramente muscular (TALBOT.; SCHOTZ, 2011).

A necessidade das planárias estarem bem alimentadas para crescerem e se reproduzirem, acarretam na morte por falta de acesso ao alimento e redução do número de planárias pela perda de fecundidade (OVIEDO et al., 2008). A redução na locomoção das planárias também pode implicar na maior propensão ao ataque por predadores. De acordo com Kosala (2001), as planárias estão sempre em movimento, seja para caça de alimento, seja na busca por parceiros sexuais ou para sua fuga e proteção.

O bioensaio crônico referente à regeneração envolve a formação do blastema e remodelação de tecidos velhos (REDDIEN.; ALVARADO, 2004), o APA ocasionou retardo na regeneração nas concentrações de 252 e 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$ devido ao atraso na formação do neoblasto quando comparada ao tratamento controle. Já o cloro ativo teve um atraso significativo nas concentrações 168, 210 e 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

É importante salientar que não foi visualizada má formação dos organismos durante a realização dos ensaios com APA. Todavia, para o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foi observada deformações nas concentrações superiores a 263 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Em uma análise comparativa entre os dois compostos notou-se que o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ apresentou uma LOEC menor e apresentou um atraso mais significativo na formação do blastema, fotorreceptores e aurículas.

Os efeitos de ambos os desinfetantes avaliados podem ser justificados pela ação tóxica dos reagentes e a sua capacidade de produção de espécies reativas de oxigênio, logo que esta é uma característica apresentada pelos dois reagentes. De acordo com Pirotte et al. (2015) as espécies reativas de oxigênio atuam na neuroregeneração por interferência nos processos de diferenciação e padronização. Esta interferência implica em prejuízos no sistema sensorial dificultando a sua capacidade de detectar a presença de presa ou comida (INOUE et al., 2015).

Segundo Kosala (2001), ao perceberem a presença de uma presa nas proximidades e usando seus quimiorreceptores, as planárias se direcionam ao alimento visando ao emprego de sua faringe retrátil para ingestão do fluído alimentar. Pelo fato das planárias serem fototáticas, negativas o retardo na regeneração dos fotorreceptores em *D. tigrina* prejudica a detecção da direção da intensidade da luz com possíveis consequências em termos de prevenção de predadores ou forrageamento.

Em relação à reprodução, como previsto pelos efeitos dos testes de alimentação, locomoção e regeneração os organismos expostos ao APA apresentaram uma redução menor na fecundidade quando comparado com $\text{Ca}(\text{ClO})_2$.

Estudos relatando efeitos agudos e crônicos do APA e do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ em relação ao invertebrado *D. tigrina*, até o momento, não são descritos na literatura. Assim, este estudo contribui com informações sobre os potenciais efeitos destes compostos, analisando parâmetros como alimentação, locomoção, regeneração os quais possibilitam respostas sensíveis em um curto intervalo de tempo, e quando associados às observações em longo prazo como fecundidade e fertilidade contribuem para a confiabilidade dos resultados.

Em relação ao organismo *C. xanthus* os efeitos agudos proporcionados pela exposição aos compostos APA e $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foram, respectivamente, $\text{CL}_{50-48\text{h}}$ (IC 95%) de 14,64 mg.L^{-1}

e CL_{50-48h} (IC 95%) de $1,02 \text{ mg.L}^{-1}$. Esta avaliação demonstra que o cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, apresenta toxicidade quatorze vezes maior quando comparado ao APA em relação a este organismo.

Foram observadas diferenças significativas na taxa de crescimento das larvas e na largura da cabeça de *C. xanthus* na concentração de $1464 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de APA, as quais apresentaram decréscimo de 11,80% e 23,33%, respectivamente. Com a exposição do organismo ao $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foram observadas quanto ao comprimento do corpo reduções de 15,33%, 19,19% e 19,29%, respectivamente, nas concentrações 65, 82 e $102 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$. Em relação à largura da cabeça das larvas verificou-se diminuição de 29,17% e 31,25%, nas concentrações 82 e $102 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente. Neste sentido, o organismo *C. xanthus* foi bastante sensível ao cloro ativo quando comparado com APA.

Ao final de 28 dias, apenas a exposição à concentração de $1464 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de APA foi responsável por provocar redução na taxa média de emergência do organismo em 8%. O cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ nas concentrações de 82 e $102 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ causou reduções de emergência de 8 e 12%, respectivamente. A causa destes efeitos pode ser justificada pela alteração no desenvolvimento da metamorfose do organismo devido à exposição aos reagentes, contribuído para o atraso de emergência observado nos testes (CAMPOS et al., 2016).

Portanto, o $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ apresentou maior toxicidade em relação ao APA quanto aos parâmetros percentual de emergência e desenvolvimento do corpo e da cabeça. Estas alterações afetam o nível populacional do organismo, devido à redução de emergência e da reprodução, uma vez que, ela depende do tamanho das fêmeas e dos machos (CAMPOS et al., 2016). A alteração do tamanho e da largura da cabeça pode estar relacionada com uma diminuição no consumo de alimento por interferência dos agentes químicos, visto que, a exposição prejudica os receptores olfativos dos mosquitos, tornando propensos ao ataque de predadores e dificultando a predação (CRESPO, 2011).

6.1 Importância dos resultados para área ambiental

Os estudos para a utilização do APA, seja como desinfetante ou como oxidante para redução de odores de efluentes sanitários e industriais, vêm se evidenciando principalmente pelo fato deste desinfetante gerar subprodutos menos tóxicos em relação aos subprodutos gerados pelos desinfetantes clorados (CHHETRI et al., 2016). Mas, vale ressaltar que embora a preocupação com os subprodutos seja importante para o monitoramento ambiental, em uma fase inicial do lançamento do efluente, concentrações residuais do desinfetante estão presentes

e conferem risco aos ecossistemas. Neste sentido, este estudo fornece mais informações quanto à ecotoxicidade do APA e auxilia no estabelecimento de dosagens limites de lançamento destes desinfetantes em corpos hídricos.

Zhang et al. (2018) realizaram uma compilação de trabalhos e descreveram que o tempo de meio vida do APA e do cloro livre podem atingir 412 e 586 minutos, respectivamente, quando aplicados em efluentes. Estes valores são obtidos pelo decaimento da concentração dos desinfetantes, os quais são representados por uma reação de primeira ordem, com constantes de $2,80 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ (HENAO et al., 2018) e $1,97 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ (HAAS e KARRA, 1984 apud ZHANG et al., 2018).

Sendo assim, se um efluente for lançado com um residual de 1 mg.L^{-1} , após 24 horas, a concentração dos desinfetantes pode ser estimado em $89 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ para o APA e $182 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ para o cloro. Considerando os resultados obtidos neste trabalho o APA não apresentaria riscos aos organismos avaliados, no entanto o cloro implicaria em um atraso na formação de fotorreceptores e aurículas das planárias, assim como redução no comprimento do corpo, largura da cabeça e emergência das larvas do *C. xanthus*. Nestas condições, o APA representaria risco aos organismos avaliados até 14 horas após o lançamento do efluente, enquanto que para o cloro este tempo subiria para 38 horas após o lançamento, considerando a mesma concentração residual (1 mg.L^{-1}).

A presença de concentrações residuais de APA após a desinfecção de águas residuárias é comum, visto que as características físico-químicas e microbiológicas dos efluentes não são constantes, o que prejudica a aplicação de uma dose exata do desinfetante e contribui para variações nas concentrações residuais.

Em estudos de desinfecção em efluente sanitário, Veschetti et al. (2003) utilizaram 4 mg.L^{-1} de APA, e obtiveram residual de 1 a $3,8 \text{ mg.L}^{-1}$ após 30 minutos de tempo de contato, Falsanisi et al. (2008) avaliaram a mesma dosagem e quantificaram $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de APA residual, após 40 minutos de exposição, Cavallini et al. (2013) obtiveram o residual de $1,91 \text{ mg.L}^{-1}$ após a aplicação de 5 mg.L^{-1} de APA com 20 minutos de contato, Gehr et al. (2003) utilizaram 6 mg.L^{-1} de APA e obtiveram residual de $1,5 \text{ mg.L}^{-1}$, após uma hora de exposição.

É importante destacar que as práticas de reutilização de águas residuárias têm aumentado significativamente, e muitas destas formas de reuso são direcionadas para irrigação ou outras atividades diretamente vinculadas à exposição da flora e fauna aos agentes desinfetantes. Por isso, embora a utilização do APA apresente vantagens promissoras, todas as informações possíveis deste desinfetante devem ser levantadas com o intuito de minimizar os impactos aos ecossistemas.

7 CONCLUSÃO

Este estudo contribui com informações ecotoxicológicas a respeito do APA e do cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, de uma forma comparativa, permitindo uma avaliação entre o desinfetante atualmente utilizado e um desinfetante alternativo que apresenta vantagens de interesse ambiental. De forma geral, pode-se concluir que:

- Quanto ao efeito agudo (CL_{50}) o cloro ativo apresentou toxicidade maior, porém próxima do valor do composto APA, em relação ao organismo *D. tigrina*. Quanto ao organismo *C. xanthus*, a toxicidade do cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ foi quatorze vezes maior em relação ao APA.
- O cloro ativo apresentou maior efeito tóxico crônico que o APA em relação aos organismos *D. tigrina* e *C. xanthus*, uma vez que foi responsável por uma maior inibição alimentar, redução da atividade locomotora, atraso na regeneração e diminuição da reprodução e fertilidade de planárias. Assim como, também apresentou maior redução na taxa de crescimento, largura da cabeça e na emergência em relação ao organismo *C. xanthus*. Sendo importante destacar que para os ensaios crônicos com *C. xanthus*, utilizaram concentrações 10 vezes maiores de cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ em relação ao APA.
- Os dados reportados neste trabalho contribuem para compreensão dos efeitos em concentrações letais e sub-letais dos compostos APA e do cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, acrescentando dados ecotoxicológicos relevantes sobre estes desinfetantes em relação a dois organismos que dependem da qualidade da água de corpos hídricos para sua sobrevivência, e fazem parte da cadeia alimentar de outros níveis tróficos. Neste sentido, estes resultados poderão auxiliar no estabelecimento de valores máximos permitidos em corpos hídricos, principalmente para APA, um promissor substituinte aos desinfetantes clorados.
- Estes resultados contribuem para a consolidação do uso de planárias de água doce e *C. xanthus* para estudos dos efeitos estressores utilizando parâmetros padronizados, sensíveis, confiáveis e ecologicamente relevantes.

REFERÊNCIAS

ASTM. Standard Guide for Conducting *Daphnia magna* Life-cycle Toxicity Tests. **American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, P.A, USA**, p. 93–97, 2004.

AZZELLINO, Arianna et al. Multivariate modelling of disinfection kinetics: a comparison among three different disinfectants. **Desalination and Water Treatment, Hopkinton**, v. 29, n. 1-3, p. 128-139, may, 2011.

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, jul, 2009.

ANTONELLI, M et al. Secondary effluent disinfection: PAA long term efficiency. **Environmental Science and Technology**, v. 40, n. 15, p. 4771–4775, aug, 2006.

BANACH, J. L et al. Effect of disinfectants on preventing the cross-contamination of pathogens in fresh produce washing water. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 8, p. 8658–8677, jul, 2015.

BRASILEIRO, L. B.; COLODETTE, J. L.; PILÓ-VELOSO, D. A utilização de perácidos na deslignificação e no branqueamento de polpas celulósicas. São Paulo: **Química Nova**, v. 24, n.6, p.819–829, 2001. Disponível em: <[http:// www.submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2001/vol24n6/19.pdf](http://www.submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2001/vol24n6/19.pdf)> . Acesso em: 20 abril de 2018.

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

BORGES, Lusiane Camilo. **Ácido peracético - uma novidade ecológica**, 2008. Disponível em: [http:// www.selobiologica.com.br](http://www.selobiologica.com.br)>. Aceso em: 20 abril de 2018.

BEST, J.B.; MORITA, M. Planarians as a model system for in vitro teratogenesis studies. **Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis**, v.2, n. 3–4, p. 277–291, 1982.

BITTON, Gabriel. **Wastewater Microbiology**. 3th ed. United States of America: A John Wiley & Sons, Inc., 2011, 804p.

BULL, R.J.; KOPFLER, F.C. **Health Effects of Disinfectants and Disinfection By-products**. Denver, CO: American Water Works Association Research Foundation, 1991p.

BOYCE, John M. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 5, n. 10, p. 1–10, apr, 2016.

CAMPOS, Diana et al. Responses of the aquatic midge *Chironomus riparius* to DEET exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 172, p. 80–85, mar, 2016.

CONAMA - **CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE**.
Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, 23p.

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.

CHHETRI, R.K et al. Chemical disinfection of combined sewer overflow waters using performic acid or peracetic acids. **Science of The Total Environment**, v. 490, p. 1065–1072, aug, 2014.

CAVALLINI, Grasielle Soares. **Estudo do ácido peracético na desinfecção de esgoto sanitário: influência das características físico-químicas do efluente, determinação de concentração residual e cinética de degradação**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, 2011.

CAVALLINI, Grasielle Soares et al. Evaluation of the Physical–Chemical Characteristics of Wastewater After Disinfection with Peracetic Acid. **Water Air Soil Pollut**, v. 10, p. 224–1752, oct, 2013.

CLARK, Robert Raymond; JOHNSTON, James B. **Influence the Distribution System on Mutagens in a Potable Wq of Chlorination and water Supply** . Research Report 168. Urbana, IL: Water Resources Center, Unive at Urbana-Champaign, EUA, p. 1–146, 1982.

CRESPO, José G. A Review of Chemosensation and Related Behavior in Aquatic Insects. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 62, p. 1–39, 2011. Disponível em: <<http://www.insectscience.org/11.62>>. Acesso em: 25 de abril de 2018.

CHIANG, P.C et al. Modeling an ozone bubble column for predicting its disinfection efficiency and control of DBP formation. **Chemosphere**, v. 39, n. 1, p. 55–70, jul, 1999.

CALLISTO, M et al. Diversity assessment of benthic macroinvertebrates, yeasts and microbiological indicators along a longitudinal gradient in Serra do Cipó, Brazil. **Brazilian**

Journal of Biology, v. 61, n. 2, p. 259–266, 2004. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842004000500003>>. Acesso em: 25 de maio de 2018.

CHHETRI, Ravi Kumar.; BAUN, Anders.; ANDERSEN, Henrik Rasmus. Algal toxicity of the alternative disinfectants performic acid (PFA), peracetic acid (PAA), chlorine dioxide (ClO₂) and their by-products hydrogen peroxide (H₂O₂) and chlorite (ClO²⁻). **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, 2016. Disponível em: <
http://www.file:///C:/Users/Le%C3%B4ncio/Downloads/Algal_toxicity_of_the_alternative_disinf.pdf>. Acesso em: 20 abril de 2018.

CHENJIAO, Wu et al. In-Use Evaluation of Peracetic Acid for High-Level Disinfection of Endoscopes. **Gastroenterology Nursing**, v. 39, n. 2, p. 116–120, mar, 2016.

CALEVRO, F et al. Bioassays for testing effects of Al, Cr and Cd using development in the amphibian *Pleurodeles waltl* and regeneration in the planarian *Dugesia etrusca*. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, v.2, n. 3, p. 281–288, 1999. Disponível em:
<http://www.tandfonline.com/loi/uaem20>. Acesso em: 25 outubro de 2018.

CAVALCANTI, V.A. **Avaliação da toxicidade de sedimentos e águas contaminadas com azocorantes têxteis utilizando *Chironomus xanthus* e *Daphnia similis***. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – ENSP, Rio de Janeiro, RJ, 2010.

DA COSTA, Juliana Berninger. **Avaliação ecotoxicológica de efluente de tratamento secundário de esgoto sanitário após desinfecção com ácido peracético, cloro, ozônio, radiação ultravioleta**. 2007.178 f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2007.

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.

DOMINGUES, I et al. Assessing dimethoate contamination in temperate and tropical climates: Potential use of biomarkers in bioassays with two chironomid species. **Chemosphere**, v. 69, n. 1, p. 145–154, aug, 2007.

DIBO, Liu et al. Peracetic acid is a suitable disinfectant for recirculating fish-microalgae integrated multi-trophic aquaculture systems. **Aquaculture Reports**, v. 4, p. 136–142, nov, 2016.

DEBORDE, Marie; VON GUNTEN, Urs. Reaction of chlorine with organic and inorganic compounds during water treatment – Kinetics and mechanisms: A critical review. **Water Research**, v. 42, n. 1-2, p. 13-51, jan, 2008.

DORNFELD, Carolina Buso. **Utilização de Chironomus sp. (Díptera, Chironomidae) para a avaliação da qualidade de sedimentos e contaminação por metais**. 2006. 239f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos - USP, São Carlos, 2006.

DANIEL, Luiz Antonio. (Coord.). Projeto PROSAB. **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. 1 ed. Rio de Janeiro: ABES, RIMA, 2001.

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

DOEDERER, Katrin et al. Factors affecting the formation of disinfection by-products during chlorination and chloramination of secondary effluent for the production of high quality recycled water. **Water Research**, v. 48, n. 1, p. 218–228, jan, 2014.

DE SANCTIS, Marco et al. Integration of an innovative biological treatment with physical or chemical disinfection for wastewater reuse. **Science of the Total Environment**, v. 543, p. 206–213, feb, 2016.

ELIA, Antonia Concetta.; ANASTASI, Valeria.; DÖRR, Ambrosius Josep Martin. Hepatic antioxidant enzymes and total glutathione of *Cyprinus carpio* exposed to three disinfectants, chlorine dioxide, sodium hypochlorite and peracetic acid, for superficial water potabilization. **Chemosphere**, v. 64, n. 10, p. 1633–1641, sep, 2006.

EMMANUEL, Evens et al. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 891–900, sep, 2004.

FONSECA, A.L.; ROCHA, O. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rampel, 1993 (Díptera, Chironomidae). **Acta Limnologica Brasiliensia**, v.16, n. 2, p. 153–161, jan, 2004.

FALSANISI, Dario et al. Kinetics of PAA Demand and its Implications on Disinfection of Wastewaters. **Water Quality Research Journal of Canada**, v. 41, n. 4, p. 398–409, nov, 2006.

FISHER, D. J et al. Evaluation of wheat-based thin stillage as a water source for growing and finishing beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 10, p. 2810–2816, oct, 1999.

FERRÃO FILHO, Aloysio da S et al. 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, apr, 2008.

FALSANISI, Dario et al. Effect of Suspended Particles on Disinfection of a Physicochemical Municipal Wastewater with Peracetic Acid. **Water Quality Research Journal of Canada**. v. 43, n.1, p. 47–54, feb, 2008.

FARIAS, Rafaela Lima. **Distribuição dos Gêneros de Chironomidae (Insecta: Diptera) em um rio intermitente do semiárido brasileiro, rio Ipanema, PE**. 2011. 59f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, PB, 2011.

FERRARIS, Michela et al. Study of potential toxic effects on rainbow trout hepatocytes of surface water treated with chlorine or alternative disinfectants. **Chemosphere**, v. 60, n. 1, p. 65–73, jun, 2005.

FRENZILLI, G.; NIGRO, M.; LYONS, B.P. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in 667 aquatic environments. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 80–92, jan-feb, 2009.

GEHR, Ronald et al. Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater. **Water Research**, v. 37, n. 19, p. 4573–4586, nov, 2003.

GULLAN, P. J. Os insetos: um resumo de entomologia. 3 ed, Tradução de: The insects: an outline of entomology, tradução de Sônia Maria Marques Hoenen , São Paulo: Roca, 2007.

HENAO, Laura Domínguez et al. Influence of inorganic and organic compounds on the decay of peracetic acid in wastewater disinfection. **Chemical Engineering Journal**, v. 337, p. 133–142, apr, 2018.

INOUE, Takeshi et al. Planarian shows decision-making behavior in response to multiple stimuli by integrative brain function. **Zoological Letters**, v. 1, n. 1, p. 7, feb, 2015.

JIANG, Jingyi et al. 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, sep, 2018.

KITIS, Mehmet. Disinfection of wastewater with peracetic acid: A review. **Environment International**, v. 30, n. 1, p. 47–55, mar, 2004.

KAUR, Navjeet.; KISHORE, Dharma. Peroxy acids: Role in organic synthesis. **Synthetic Communications**, v. 44, n. 6, p. 721–747, may, 2013.

KOLASA, Jurek. FLATWORMS: TURBELLARIA AND NEMERTEA IN: **Ecology and classification of north American freshwater invertebrates**. 2nd Ed. AP, United States of America: Academic press, 2001, p.155–180.

KNAKIEVICZ, Tanise.; FERREIRA, Henrique Bunselmeyer. Evaluation of copper effects upon *Girardia tigrina* freshwater planarians based on a set of biomarkers. **Chemosphere**, v. 71, n. 3, p. 419–428, mar, 2008.

KNAKIEVICZ, Tanise. Planarians as invertebrate bioindicators in freshwater environmental quality: the biomarkers approach. **Ecotoxicology and Environmental Contamination**, v. 9, n. 1, p. 1–12, aug, 2014. Disponível em: <
<http://www.citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.921.5605&rep=rep1&type=pdf>>. Acesso em: 17 março de 2018.

KNAKIEVICZ, Tanise et al. Reproduction modes and life cycle of freshwater planarians (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola) from Southern Brazil. **Invertebrate Biology**, v.125, n. 3, p. 212–221, aug, 2006. Disponível em:< [http://www.file:///C:/Users/Le%C3%B4ncio/Downloads/Knakievicz et al-2006-Invertebrate Biology.pdf](http://www.file:///C:/Users/Le%C3%B4ncio/Downloads/Knakievicz%20et%20al-2006-Invertebrate%20Biology.pdf)>. Acesso em: 17 março de 2018.

KALAFATIĆ, M.; KOPJAR, N.; BESENDORFER, V. The impairments of neoblast division in regenerating planarian *Polycelis felina* (Daly.) caused by in vitro treatment with cadmium sulfate. **Toxicology in vitro**, v.18, n. 1, p. 99–107, feb, 2004.

KNAPIK, L. F. O.; ANDREATTA, M. **Avaliação de toxicidade de três substâncias de referência ao microcrustáceo *Daphnia magna***. 2013. 69f. Trabalho de Conclusão de curso - UTFPR, Curitiba, PR, 2013.

LIU, Dibo et al. Salinity, dissolved organic carbon and water hardness affect peracetic acid (PAA) degradation in aqueous solutions. **Aquacultural Engineering**, v. 60, p. 35–40, may, 2014.

LUUKKONEN, Tero.; PEHKONEN, Simo O. Peracids in water treatment : A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n.1, p. 1–39, dec, 2016. Disponível em: <https://www.doi.org/10.1080/10643389.2016.1272343>. Acesso em: 20 fevereiro de 2018).

LIU, Dibo et al. Comparison of the toxicity of wofasteril peracetic acid formulations E400, E250, and Ispez to *Daphnia magna*, with emphasis on the effect of hydrogen peroxide. **North American Journal Of Aquaculture**, v.77, n.2, p. 128–135, feb, 2015.

LÉO, Luís Fernando. **Investigação da toxicidade, tratabilidade e formação de subprodutos tóxicos em efluentes clorados de lagoas de estabilização com e sem pós-tratamento**, 2008. 160 f. Tese (Doutorado)- Escola Politécnica da Universidade de São Paulo- Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária, São Paulo, SP, 2008.

MONARCA, Silvano et al. Genotoxicity of drinking water disinfectants in plant bioassays. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 46, n. 2, p. 96–103, may, 2005. Disponível em: < <https://www.doi.org/10.1002/em.20137> >. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

MONARCA, Silvano et al. Mutagenicity and disinfection by-products in surface drinking water disinfected with peracetic acid. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 309–318, feb, 2002. Disponível em: <<https://www.doi.org/10.1002/etc.5620210212>>. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

MACÊDO, Jorge Antônio Barros. **Subprodutos do processo de desinfecção de água pelo uso de derivados clorados**. Juiz de Fora, MG: MACEDO, 2001.

MCFADDEN, M et al. Comparing peracetic acid and hypochlorite for disinfection of combined sewer overflows: Effects of suspended-solids and pH. **Science of the Total Environment**, v. 599–600, p. 533–539, dec, 2017.

MEINELT, T et al. Application of peracetic acid to the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* in Sander (*Sander lucioperca*) breeding. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift** , v.114, n.7, p. 244–251, jul, 2007.

MAGALHÃES, Danielly de Paiva; FERRÃO FILHO, Aloysio da Silva. Ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355–381, 2008. Disponível em: < <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/27395> >. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

MORIHAMA, A.C et al. Integrated solutions for urban runoff pollution control in Brazilian metropolitan regions. **Water Science & Technology**, v. 66, n. 4, p. 704–11, aug, 2012.

MEZZANOTTE, Valeria et al. Wastewater Disinfection Alternatives: Chlorine, Ozone, Peracetic Acid, and UV Light. **Water Environment Research**, v. 79, n. 12, p. 2373–2379, dec, 2007.

NURIZZO, Costantino et al. By-products in surface and reclaimed water disinfected with various agents. **Desalination**. v. 176, n. 1-3, p. 241–253, jun, 2005.

NANO, Gian Mario et al. In vitro tests to evaluate potential biological activity in natural substances. **Fitoterapia**, v. 73, n. 2, p. 140–146, apr, 2002.

NEWMARK, Phillip A.; SÁNCHEZ-ALVARADO, Alejandro. Bromodeoxyuridine specifically labels the regenerative stem cells of planarians. **Developmental Biology**, v. 220, n. 2, p. 142–153, apr, 2000.

NACIMENTO, M. S et al. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização de uva. **Brazilian Journal food**, v. 6, n. 1, p. 63–68, jan/ jun, 2003. Disponível em: <<http://www.bj.ital.sp.gov.br/artigos/html/busca/PDF/v6nu113p.pdf>>. Acesso em: 20 abril de 2018.

OECD, Test No. 219: sediment–water chironomid toxicity using spiked water. OECD Guidel Test Chem. OECD Publishing, 2004.

OECD, Test No. 235: Chironomus sp., acute immobilisation test, OECD Publishing, Paris, 2011.

OVIEDO, Néstor et al. Establishing and maintaining a colony of planarians. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 3, n. 10, p. 1–13, oct, 2008.

PIROTTE, Nick et al. Reactive oxygen species in planarian regeneration: An upstream necessity for correct patterning and brain formation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, p. 1–19, may, 2015.

PAGAN, Onén R.; COUDRON, Tamara.; KANERIA, Tanvi. The flatworm planarian as a toxicology and behavioural pharmacology animal model in undergraduate research experiences. **Journal of Undergraduate Neuroscience Education**, v. 7, n. 2, p. 48–52, jun, 2009.

PEARL, Ugochi Ofoegbu et al. Toxicity of tributyltin (TBT) to the freshwater planarian *Schmidtea mediterranea*. **Chemosphere**, v. 148, p. 61–67, apr, 2016.

- PAGÁN, Oné R.; COUDRON, Tamara.; KANERIA, Tanvi. The flatworm planaria as a toxicology and behavioral pharmacology animal model in undergraduate research experiences. **The journal of undergraduate neuroscience education**, v.7, n.2, p. 48-52, jun, 2009.
- PESTANA, João L. T et al. Fear and loathing in the benthos: Responses of aquatic insect larvae to the pesticide imidacloprid in the presence of chemical signals of predation risk. **Aquatic Toxicology**, v. 93, n. 2-3, p. 138–149, jun, 2009.
- PEDERSEN, Per Overgaard.; BRODERSEN, Erling.; CECIL, David. Disinfection of tertiary wastewater effluent prior to river discharge using peracetic acid; treatment efficiency and results on by-products formed in full scale tests. **Water Science and Technology**, v. 68, n. 8, p. 1852–1856, oct, 2013.
- PEDERSEN, Lars Flemming et al. Peracetic acid degradation and effects on nitrification in recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, v. 296, n. 3-4, p. 246–254, nov, 2009.
- ROSSI, Sabrina et al. Peracetic Acid Disinfection: A Feasible Alternative to Wastewater Chlorination. **Water Environment Research**, v. 79, n. 4, p. 341–350, apr, 2007. Disponível em: < <https://www.doi.org/10.2175/106143006X101953>>. Acesso em: 20 de outubro de 2018.
- RODRIGUES, Andreia C. M et al. Behavioural responses of freshwater planarians after short-term exposure to the insecticide chlorantraniliprole. **Aquatic Toxicology**, v. 170, p. 371–376, jan, 2016.
- RODRIGUES, Andreia C. M et al. Sub-lethal toxicity of environmentally relevant concentrations of esfenvalerate to *Chironomus riparius*. **Environmental Pollution**, v. 207, p. 273–279, dec, 2015.
- REGINA, Carla Costa et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1820–1830, jan, 2008. Disponível em: < <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/6765> >. Acesso em: 24 de setembro de 2018.
- REDDIEN, Peter W.; ALVARADO, Alejandro Sánchez. Fundamentals of Planarian Regeneration. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 20, n. 1, p. 725–757, nov, 2004.
- RAFFA, Robert B., HOLLANDE, Lauren J., SCHULINGKAMP, Robert J. Quantitative assessment of dopamine D2 antagonist activity using invertebrate (Planarian) locomotion as a

functional endpoint. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 45, n. 3, p. 223–226, may-jun, 2001.

SNOEUINK, V. L.; JENKINS, D. **Water Chemistry**. John Wiley & Sons. New York, USA. 1980.

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.

SANCHES, Sérgio M.; SILVA, Carlos Henrique Tomich Paula.; VIERIA, Eny Maria. Agentes desinfetantes alternativos para o tratamento de água. **Química Nova na Escola**, n.1, p. 8–2, mai, 2003. Disponível em: <<http://www.qnesc.s bq.org.br/online/qnesc17/a03.pdf>>. Acesso em: 24 de setembro de 2018.

SCHMIDT Larry J.; GAIKOWSKI Mark P.; GINGERICH William H. Environmental Assessment for the Use of Hydrogen Peroxide in Aquaculture for Treating External Fungal and Bacterial Diseases of Cultured Fish and Fish Eggs. **Science for a Changing World**, p. 1–180, jun, 2006. Disponível em: <<https://www.animaldrugstfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadEA/123>>. Acesso em: 24 de setembro de 2018.

SEDLAK, David L.; VON GUNTEN, Urs. The chlorine dilemma. **Science**, vol. 331, p. 42–43, jan, 2011.

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.

STRIXINO, S. T. **Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancarlensis sp. n.* (Diptera: Chironomidae)**. 157 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

SOLVAY, PROXITANE® 1512 Peróxidos do Brasil Ltda. Disponível em: <<http://www.peroxidos.com.br/>>. Acesso em: 20 outubro de 2017.

SHAH, Amish et al. Peracetic Acid Oxidation of Saline Waters in the Absence and Presence of H₂O₂: Secondary Oxidant and Disinfection Byproduct Formation. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n.3, p. 1698–1705, jan, 2015.

SLUYS, Ronald. Phylogenetic relationships of the triclads (Platyhelminthes, Seriata, Tricladida). *Bijdragen dierk. Bijdragen tot de Dierkunde*, v. 59, n.1, p. 3–25, 1989. Disponível em: < <https://www.repository.naturalis.nl/document/548257> >. Acesso em: 24 de setembro de 2018.

SALA, Osvaldo E et al. Global biodiversity scenario for the year 2100. *Science*, v. 287, n. 5459, p. 1770–1774, mar, 2000.

SEILER, Claudia.; BERENDONK, Thomas U. Heavy metal driven coselection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture. *Frontiers in Microbiology*, v. 3, n. 399, p. 1–10, dec, 2012. Disponível em: < <https://www.doi.org/10.3389/fmicb.2012.00399>>. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

TALBOT, Jared.; SCHOTZ, Eva Maria. Quantitative characterization of planarian wild-type behavior as a platform for screening locomotion phenotypes. *Journal of Experimental Biology*, v. 214, n. 7, p. 1063–1067, dec, 2011. Disponível em: < <http://www.jeb.biologists.org/content/214/7/1063.short> >. Acesso em: 20 de outubro de 2018.

TRIVINHO-STRIXINO, S. **Larvas de Chironomidae - Guia de Identificação**. Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Hidrobiologia, Laboratório de Entomologia Aquática. São Carlos, 2011.

UNESCO. **Relatório Mundial das Nações Unidas sobre a Avaliação dos Recursos Hídricos: A água em um planeta em transformação**, 2018. Disponível em: < <http://www.unesco.org/new/pt/brasil/natural-sciences/environment/wwdr>>. Acesso em: 20 de setembro de 2018.

USEPA - Environmental Protection Agency. EPA-821-R- 02-1. **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. 5th ed. Washington. USA, 2002.

VARGAS, Vera Maria Ferrão et al. Genotoxicity assessment in aquatic environments under the influence of heavy metals and organic contaminants. *Mutation Research*, v. 490, n.2, p. 141–158, feb, 2001.

VESCHETTI, Enrico et al. Pilot-plant comparative study of peracetic acid and sodium hypochlorite wastewater disinfection. *Water Research*. v. 37, n.1, p. 78–94, jan, 2003.

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.

WHITE, G. C. **Revised edition of: Handbook of chlorination and alternative disinfectants, 4th ed. 1999.** 5th ed. Black & Veatch Corporation. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. New Jersey. USA. 2010.

WAGNER, Monica.; BRUMELIS, Daina.; GEHR, Ronald. Disinfection of wastewater by hydrogen peroxide or peracetic acid: Development of procedures for measurement of residual disinfectant and application to a physicochemically treated municipal effluent. **Water Environment Research**, v.74, n. 1, p. 33–50, jan, 2002. Disponível em: <<https://www.doi.org/10.2175/106143002X139730>>. Acesso em: 22 junho de 2018.

WEST, Danielle M et al. N -nitrosamine formation by monochloramine , free chlorine , and peracetic acid disinfection with presence of amine precursors in drinking water system. **Chemosphere**, v. 153, p. 521–527, jun, 2016.

XUE, Zheng et al. Pseudomonas aeruginosa inactivation mechanism is affected by capsular extracellular polymeric substances reactivity with chlorine and monochloramine. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 83, n.1, p. 101–111, jan, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01453.x> >. Acesso em: 22 junho de 2018.

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.

XU, Pei et al. Wastewater disinfection by ozone: main parameters for process design. **Water Research**, v. 36, n. 4, p. 1043-1055, feb, 2002.

YU, Ang et al. Tributyltin exposure influences predatory behaviour, neurotransmitter content and receptor expression in *Sebasticus marmoratus*. **Aquatic Toxicology**, v. 128–129, p. 158–162, 2013.

ZORATTO, Ana Cristina. **Avaliação ecotoxicológica de compostos naturais produzidos por Eucalyptus grandis e Eucalyptus urophylla no Vale do Rio Doce, Minas Gerais.** 2007. 222f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos – USP, São Carlos, 2007.

ZHANG, Lehua. Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. **Water Research**, v. 42, n. 1-2, p. 1–12, jan, 2008.

ZHANG, Chiqian.; BROWN Pamela J.B.; HU Zhiqiang. Thermodynamic properties of an emerging chemical disinfectant, peracetic acid. **Science of the Total Environment**, v. 621, p. 948–959, 2018.

ANEXOS

1 Parâmetros dos teste agudo e crônico com APA e Cloro ativo do hipoclorito de cálcio1.1 Teste agudo *Dugesia tigrina* APATeste agudo APA com *Dugesia tigrina*

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,6	6	686	22,1
C1	7,6	5,7	676	22,1
C2	7,6	6,1	650	22,1
C3	7,6	6,2	670	22,1
C4	7,6	6,1	666	22,1
C5	7,7	6,2	665	22,8
C6	7,8	5,8	680	22,1
C7	7,8	6,3	685	22,1
C8	7,6	6	686	22,1
C9	7,5	6	687	22,1
C10	7,5	6	689	22,2
C11	7,6	6	690	22,1

1.2 Teste agudo *Dugesia tigrina* Cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ Teste agudo Cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ *Dugesia tigrina*

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,8	5,6	574	22,2
C1	7,5	5,7	576	22,3
C2	7,6	6,1	570	22,1
C3	7,5	6,2	578	22,1
C4	7,6	6,1	580	22,1
C5	7,6	5,1	577	22,8
C6	7,6	5,3	577	22,1
C7	7,8	6,3	580	22,1
C8	7,6	6	582	22,1
C9	7,5	6	601	22,1
C10	7,9	6	602	22,2
C11	7,6	6	690	22,1

1.3 Teste crônico *Dugesia tigrina* APA

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,5	6	686	22,1
C1	7,9	6,2	693	22,1
C2	7,7	6	718	22,1
C3	7,6	6,2	684	22,1
C4	7,5	6	666	22,1

1.4 Teste crônico *Dugesia tigrina* Cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,5	5	612	22,1
C1	7,5	5,2	642	22,1
C2	7,7	5,6	543	22,1
C3	7,5	5,5	542	22,1
C4	7,5	,56	540	22,1

2 Teste agudo *Chironomus xanthus* com APATeste agudo com APA *Chironomus xanthus*

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,6	6	686	22,1
C1	7,6	5,7	676	22,1
C2	7,6	6,1	650	22,1
C3	7,6	6,2	670	22,1
C4	7,6	6,1	666	22,1
C5	7,7	6,2	665	22,8
C6	7,8	5,8	680	22,1
C7	7,8	6,3	685	22,1
C8	7,6	6	686	22,1
C9	7,5	6	687	22,1
C10	7,5	6	689	22,2

2.1 Teste agudo *C. xanthus* com $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ Teste agudo com Cloro ativo do $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ *C. xanthus*

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,6	4,1	513	22,1
C1	7,6	4,1	511	22,1
C2	7,6	4,1	510	22,1
C3	7,5	4,0	512	22,1
C4	7,5	4,0	506	22,1
C5	7,3	4,0	503	22,8
C6	7,3	4,0	501	22,1
C7	7,1	4,0	500	22,1
C8	7,4	4,0	500	22,1
C9	7,5	4,0	500	22,1
C10	7,5	4,0	500	22,2

2.2 Teste crônico *C. xanthus* com APA

1º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,5	4,5	506	22,1
C1	7,3	4,2	573	22,1
C2	7,3	4,8	580	22,1
C3	7,5	4,9	584	22,1
C4	7,7	4,9	600	22,1

2º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,8	4,3	526	22,1
C1	7,9	4,2	583	22,1
C2	7,9	4,2	580	22,1
C3	7,8	4,2	584	22,1
C4	7,7	5	610	22,1

3º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	8	3,5	506	22,1
C1	8,3	3,2	573	22,1
C2	8,3	3,8	580	22,1
C3	8	3,9	584	22,1
C4	8,3	3	600	22,1

2.3 Teste crônico Cloro ativo do hipoclorito de cálcio $\text{Ca}(\text{ClO})_2$

1º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,2	4,0	501	22,1
C1	7,2	4,0	523	22,1
C2	7,3	4,5	560	22,1
C3	7,5	4,6	574	22,1
C4	7,4	4,8	590	22,1

2º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	7,8	4,0	501	22,1
C1	7,9	4,1	523	22,1
C2	7,9	4,1	560	22,1
C3	7,8	4,2	574	22,1
C4	7,7	4,0	580	22,1

3º dia

	pH	O.D (mg/L)	Cond (us)	Temperat
C0	8	3,0	500	22,1
C1	8,3	3,1	523	22,1
C2	8,3	3,2	520	22,1
C3	8	3,3	584	22,1
C4	8,3	3	580	22,1