

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**Avaliação ecotoxicológica do fármaco Triclosan para  
invertebrados de água doce com ênfase em ensaios com  
sedimento marcado (“spiked sediment”)**

**FABIO HERMES PUSCEDDU**

**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear – Materiais.**

**Orientadora:  
Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel**

**São Paulo  
2009**

*“Algumas coisas são verdadeiras,  
acreditando nelas ou não...”*  
Autor desconhecido

## Agradecimentos

A Deus pelas oportunidades, desafios, e pela presença constante na minha vida.

A minha família, por todo apoio, ajuda, compreensão e incentivo que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

A minha orientadora Dra. Maria Beatriz Bohrer-Morel por todo o aprendizado, dicas, a força e a confiança depositada.

Ao pessoal do Laboratório de Ecotoxicologia do IPEN: Caio, Kim e Gustavo pelo excelente convívio do dia a dia. A Angélica pelos conselhos, dicas, força e amizade. A Vanessa por toda ajuda na rotina diária, pelas conversas e discussões que me ajudaram muito a crescer. A Taísa, pela amizade, as conversas, momentos de descontração, apoio e as discussões do trabalho...suas dúvidas foram uma grande escola para mim.

Ao pessoal do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN: Elias, Cris, Elaine, Nilce, Hélio, Janara, Patrícia e Carina. A Dra. Marycel Cotrin pela realização das análises químicas e a Dra. Maria Aparecida Faustino Pires, pelas sugestões, dicas, tranquilidade e quebradas de galho. A Dra. Denise Fungaro pela sua colaboração e disposição no final deste trabalho.

A Dra. Sueli Borrelly pelas contribuições e dicas no início do trabalho. Ao Gabriel e Neto pelas risadas e pela bicharada cedida.

Ao pessoal do Laboratório de Ecotoxicologia da Unisanta: Tio Aldo, pelo incentivo e ajuda nos cálculos inúmeras vezes. Ao Augusto, pelos conselhos, pronta disposição discutir e ajudar sempre. Ao Camilo, por todo os ensinamentos, pela paciência, o convívio, conselhos, amizade, incentivo e oportunidade desde o início da faculdade e que foram fundamentais tanto na profissão como na vida. Ao Fernando, pela grande amizade desenvolvida nos últimos anos, pela força, discussões sobre trabalhos, incentivo e ânimo no desenvolvimento dos trabalhos. Foi um “gás” fundamental para o desenvolvimento do trabalho.

Aos meus amigos Carlão, Lucas, Nino, Ju e Daniel Galado, Buio, Joe, Amanda, Nestor, Fernanda, Dani e Guilherme pelos ótimos e inesquecíveis momentos vividos. Vocês foram fundamentais em tudo.

Aos amigos do trabalho, Maria Amália, Gabi e Zé Renato e Juliana pelos bons momentos e risadas que foram muito importantes nessa reta final do trabalho.

A Renata pela enorme ajuda, conselhos, força e apoio que foram fundamentais para realização deste trabalho.

A Dra. Odete Rocha e ao Airton da UFSCar pela ajuda nas coletas e dicas.

A Dra. Regina Sáfydi pelas sugestões, incentivo, dicas e ter aceitado fazer parte deste trabalho.

A CNEN (Comissão Nacional de Energia Nuclear) pela bolsa concedida para o desenvolvimento deste trabalho.

A todos que não foram citados aqui, mas que de uma forma ou de outra foram importantes durante a realização deste trabalho.

## Avaliação ecotoxicológica do fármaco Triclosan para invertebrados de água doce em ênfase em ensaios com sedimento marcado (“spiked sediment”)

### Resumo

O aumento crescente da ocorrência de fármacos e produtos de cuidados pessoais (“*Pharmaceutical and Personal Care Products – PPCPs*”) no ambiente aquático pode causar efeitos adversos à saúde humana e às comunidades aquáticas. O risco ambiental dos PPCPs, associado à possibilidade de efeitos sinérgicos entre estes compostos, assim como o aumento do uso de compostos orgânicos sintéticos, desencadearam grande preocupação com relação ao potencial tóxico à biota. O Triclosan (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxy)-fenol) é um produto farmacêutico mundialmente utilizado pelo seu mecanismo de efeito bactericida, sendo encontrado em pelo menos 932 produtos, como shampoos, sabonetes, desodorantes, loções, pastas de dentes, detergentes, roupas esportivas entre outros. Atualmente, estudos sobre a toxicidade do Triclosan na água e, principalmente, nos sedimentos, são escassos. Sabe-se que a fotodegradação deste produto gera dioxinas e, no momento, órgãos ambientais, como a EPA, discutem se haverá ou não restrições ao uso. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do Triclosan na mortalidade da larva de inseto *Chironomus xanthus*, e mortalidade e reprodução do microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*, expostos a sedimentos marcados com Triclosan, com base nas metodologias da EPA e OECD. O valor médio de CE50;96H obtido nos testes de toxicidade aguda com *C. xanthus* foi de 45,26 mg.Kg<sup>-1</sup>. Os testes de toxicidade crônica com *C. dubia* com sedimento marcado foram realizados de acordo com os procedimentos de Burton & MacPherson (1995). A concentração de efeito não observado (CENO) e a menor concentração de efeito observado (CEO) foram de 5,78 e 6,94 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente.

Palavras-chave: Triclosan, fármaco, *Chironomus xanthus*, *Ceriodaphnia dubia*, sedimento marcado.

## Ecotoxicological assessment of the pharmaceutical compound Triclosan to freshwater invertebrates with emphasis to spiked sediment tests

### Abstract

The increasing of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) occurrence in the aquatic environment cause adverse effects on the human health and aquatic communities. The environmental risk of the PPCPs associated with the possibility of synergic effects between PPCPs and the increase of the use of synthetic organic compounds, unchained a great concern on the toxic potential to biota aquatic. Triclosan (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxy)-fenol) is a pharmaceutical compound widely used due your antibacterial mechanism effect, found in at least 932 products such as shampoos, toilet soaps, deodorants, lotions, toothpaste, detergents, socks and underwear, among others. Currently, studies about the Triclosan toxicity in the water and, mainly in the sediment, are poorly. We have the knowledge that the photodegradation of this product results into dichlorodibenzo-*p*-dioxin, and now it has great discussion on environmental agencies, like EPA, about the release or restriction of this product. The aim of this work is to assess the effects of Triclosan on mortality of insect larvae *Chironomus xanthus* and mortality and reproduction inhibition of microcrustacea *Ceriodaphnia dubia* exposed to Triclosan spiked sediments based on standard methods EPA and OECD. The EC50;96H obtained on acute toxicity tests with *C. xanthus* was 45,26 mg.Kg<sup>-1</sup>. The chronic toxicity tests with *C. dubia* using spiked sediments were performed following the procedure in Burton & MacPherson (1995). A no-observed-effect concentrations (NOEC) and lowest-observed-effect concentration (LOEC) were 5,78 e 6,94 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectively.

Keywords: Triclosan, pharmaceuticals, *Chironomus xanthus*, *Ceriodaphnia dubia*, spiked sediment.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b>                             | 01 |
| <b>2. OBJETIVOS</b>                              | 07 |
| 2.1. Objetivo geral                              | 07 |
| 2.2. Objetivos específicos                       | 07 |
| <b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>                  | 08 |
| 3.1. Ecotoxicologia e Meio Ambiente              | 08 |
| 3.2. Ensaio de ecotoxicidade                     | 09 |
| 3.2.1. Ensaio de ecotoxicidade aguda             | 10 |
| 3.2.2. Ensaio de ecotoxicidade crônica           | 11 |
| 3.2.3. Organismos-teste                          | 12 |
| 3.2.4. Sedimento Enriquecido – “spiked-sediment” | 12 |
| 3.3. Fármacos nos Ecossistemas Aquáticos         | 14 |
| 3.4. Triclosan                                   | 16 |
| 3.5. Legislação                                  | 18 |
| <b>4. METODOLOGIA</b>                            | 21 |
| 4.1. Cultivo e manutenção de organismos          | 21 |
| 4.1.1. <i>Ceriodaphnia dubia</i>                 | 21 |
| 4.1.1.1. Água de cultivo                         | 21 |
| 4.1.1.2. Teste de viabilidade da água de cultivo | 23 |
| 4.1.1.3. Alimento                                | 23 |
| 4.1.1.4. Condições de cultivo                    | 23 |
| 4.1.1.5. Manutenção dos cultivos                 | 24 |

|   |    |
|---|----|
| 4.1.1.6. Teste de sensibilidade   | 24 |
| 4.1.2. <i>Chironomus xanthus</i>  | 25 |
| 4.1.2.1. Cultivo e Manutenção   | 25 |
| 4.1.2.2. Alimentação  | 26 |
| 4.1.2.3. Testes de sensibilidade  | 26 |
| 4.2. Avaliação da toxicidade do Triclosan   | 26 |
| 4.2.1. Substância-teste   | 26 |
| 4.2.2. Avaliação da toxicidade em sedimentos  | 27 |
| 4.2.2.1. “ <i>Spiked-sediment</i> ”   | 27 |
| 4.2.2.1.1. Preparo do sedimento para o teste  | 27 |
| 4.2.2.1.2. Coleta de sedimento  | 28 |
| 4.2.2.1.3. Caracterização do sedimento  | 28 |
| 4.2.2.2. Ensaio de ecotoxicidade aguda nos sedimentos com <i>Chironomus xanthus</i> | 29 |
| 4.2.2.2.1. Preparo das soluções-teste   | 29 |
| 4.2.2.2.2. Montagem do teste  | 29 |
| 4.2.2.2.3. Condições para realização dos testes                                     | 30 |
| 4.2.2.3. Avaliação da toxicidade crônica com <i>C. dubia</i>                        | 30 |
| 4.2.2.3.1. Preparo das soluções-teste   | 31 |
| 4.2.2.3.2. Montagem do teste  | 31 |
| 4.2.2.3.3. Condições para realização dos testes                                     | 32 |
| 4.2.2.3.4. Manutenção dos testes  | 32 |
| 4.2.2.4. Avaliação da toxicidade em água para <i>Ceriodaphnia dubia</i>             | 32 |
| 4.2.2.4.1. Teste definitivo   | 33 |
| 4.3. Avaliação dos Resultados   | 34 |

|  |    |
|--|----|
| <b>5. RESULTADOS</b>   | 37 |
| 5.1. Avaliação da toxicidade do sedimento  | 37 |
| 5.1.1. Caracterização do sedimento   | 37 |
| 5.1.1.1. Granulometria   | 37 |
| 5.1.1.2. Metais  | 37 |
| 5.2. Ensaio de ecotoxicidade aguda no sedimento com <i>Chironomus xanthus</i>                | 38 |
| 5.2.1. Sensibilidade de <i>Chironomus xanthus</i>  | 39 |
| 5.3. Avaliação da toxicidade crônica com <i>C. dubia</i>                                     | 40 |
| 5.3.1 Sensibilidade de <i>Ceriodaphnia dubia</i>   | 41 |
| 5.4. Avaliação da toxicidade do Triclosan em água para <i>Ceriodaphnia dubia</i>             | 42 |
| 5.4.1. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Ceriodaphnia dubia</i> com ração              | 43 |
| 5.4.2. Avaliação da toxicidade crônica para <i>Ceriodaphnia dubia</i> sem ração              | 44 |
| <b>6. DISCUSSÃO</b>  | 46 |
| 6.1. Avaliação da toxicidade do Triclosan em sedimentos                                      | 47 |
| 6.1.1. Avaliação da toxicidade utilizando sedimento enriquecido (“ <i>Spiked-sediment</i> ”) | 48 |
| 6.1.2. Avaliação da toxicidade em sedimentos para <i>Chironomus xanthus</i>                  | 49 |
| 6.1.3. Avaliação da toxicidade em sedimentos para <i>Ceriodaphnia dubia</i>                  | 50 |
| 6.2. Avaliação da toxicidade em água para <i>Ceriodaphnia dubia</i>                          | 52 |
| <b>7. CONCLUSÕES</b>   | 57 |
| <b>8. RECOMENDAÇÕES</b>  | 58 |
| <b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>   | 59 |
| <b>ANEXOS</b>  | 73 |

## Lista de Tabelas

|   |    |
|---|----|
| TABELA I – Resultados de toxicidade do Triclosan reportados na literatura   | 18 |
| TABELA II – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade aguda do Triclosan em sedimento para <i>Chironomus xanthus</i>   | 30 |
| TABELA III – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan em sedimento para <i>Ceriodaphnia dubia</i>  | 32 |
| TABELA IV – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan em água para <i>Ceriodaphnia dubia</i>  | 34 |
| TABELA V – Sumário dos testes realizados  | 36 |
| TABELA VI – Análise de distribuição granulométrica do sedimento da Represa do Broa, São Carlos, São Paulo   | 37 |
| TABELA VII – Teor de metais no sedimento da Represa do Broa, São Carlos, São Paulo  | 38 |
| TABELA VIII – Toxicidade aguda (CE(l) 50;96H) de Triclosan para <i>Chironomus xanthus</i> com sedimento enriquecido   | 39 |
| TABELA IX – Reprodução de <i>Ceriodaphnia dubia</i> (nº médio de neonatas/concentração) em ensaios de toxicidade crônica do Triclosan com “spiked-sediment                          | 41 |
| TABELA X – Reprodução de <i>Ceriodaphnia dubia</i> (nº médio de neonatas/concentração) em ensaios de toxicidade crônica com Triclosan com dieta à base de algas e alimento composto | 43 |
| TABELA XI – Reprodução de <i>Ceriodaphnia dubia</i> (nº médio de neonatas/concentração) em ensaios de toxicidade crônica com Triclosan com dieta à base de algas                    | 45 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| FIGURA 1 – Possíveis rotas de fármacos e PPCPs no meio ambiente (Fonte: BILA & DEZZOTI, 2003)   | 15 |
| FIGURA 2 – Estrutura molecular do Triclosan (5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol)  | 16 |
| FIGURA 3 – Modelo digital do terreno da Bacia do Rio Jundiáí com destaque do ponto de coleta de água no Reservatório de Ribeirão do Pirai   | 22 |
| FIGURA 4 – Foto do ponto de coleta de água no reservatório Ribeirão do Pirai  | 22 |
| FIGURA 5 – Análise estatística (EPA, 2002)  | 35 |
| FIGURA 6 – Carta-controle de NaCl (CE(I)50;96H) de <i>Chironomus xanthus</i>  | 40 |
| FIGURA 7 - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de <i>C. dubia</i> .em testes de toxicidade crônica com “spiked-sediment”  | 41 |
| FIGURA 8 – Carta-controle de NaCl (CE(I)50;48H) de <i>Ceriodaphnia dubia</i>  | 42 |
| FIGURA 9 - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de <i>C. dubia</i> nos testes de toxicidade crônica do Triclosan na água com dieta a base de algas e alimento composto | 44 |
| FIGURA 10 - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de <i>C. dubia</i> nos testes de toxicidade crônica do Triclosan na água com dieta a base de algas                    | 45 |

## 1. Introdução

Historicamente, as sociedades têm adotado modelos antropocêntricos de desenvolvimento, nos quais é ressaltada a capacidade de intervenção do homem sobre a natureza. Assim, a humanidade tem exercido um forte domínio sobre o meio ambiente, ocupando os espaços desordenadamente e explorando os recursos de forma intensiva, sem a preocupação com as conseqüências desses atos.

No século XX, milhares de substâncias, como bifenilas policloradas (PCBs), agrotóxicos, praguicidas organoclorados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), dibenzofuranos policlorados, dibenzeno-p-oxinas, fármacos, entre outros foram produzidos e, em parte liberados no meio ambiente.

Estes fatos têm aumentado o interesse das sociedades em diminuir os danos causados ao meio ambiente. Destaca-se aqui, a preocupação com relação aos ecossistemas aquáticos, que possui a água como o recurso natural indispensável ao homem e de fundamental importância para a preservação da vida no planeta (DERISIO, 1992).

Desde o início do século XX a humanidade tem se preocupado com os efeitos adversos dos xenobióticos e seu potencial de risco para os ecossistemas aquáticos, sendo que já na década de 30, surge a primeira legislação brasileira sobre os recursos hídricos, denominada “Código das Águas” (Decreto nº. 24.643/34). Nos anos 60, as sociedades começaram a se preocupar com os efeitos adversos dessas substâncias a longo prazo e seu potencial de risco para os recursos hídricos, principalmente após o lançamento do livro “Silent Spring” (CARSON, 1962), que tornou-se um marco para revolução ambientalista e o despertar da consciência ecológica.

A qualidade da água por si só, e, em particular a qualidade microbiológica da água, tem uma grande influência sobre a saúde: se não for adequada, pode ocasionar surtos de doenças e causar sérias epidemias. Os riscos à saúde associados à água podem ser de curto prazo, quando resultam da poluição de água causada por elementos microbiológicos ou químicos, ou de médio e longo prazos, quando resultam

do consumo regular e contínuo, durante meses ou anos, de água contaminada com produtos químicos, como certos metais ou pesticidas (OPAS/OMS, 2001).

No que se refere aos ecossistemas aquáticos, as atividades antrópicas geram impactos, promovendo lentas e, muitas vezes, irreversíveis modificações (BOHRER, 1995). Comunidades e populações aquáticas podem ser consideradas indicadores biológicos do nível de contaminação de um ambiente, onde a presença ou a ausência de espécies pode ser um indicativo da perturbação dos ecossistemas (CHAPMAN, 1989).

A introdução de substâncias ou formas de energia estranhas à composição natural dos ecossistemas aquáticos provoca transformações biológicas e bioquímicas, importantíssimas nas comunidades deste meio. A eutrofização, por exemplo, afeta a composição específica do zooplâncton através de alterações da natureza química da água que, por sua vez, modificam a composição do fitoplâncton, acarretando alterações na qualidade e quantidade de alimentos disponíveis ao zooplâncton. Assim, podem existir diferentes comunidades associadas a diferentes condições tróficas (ROCHA *et al.*, 1995).

Ecossistemas de água doce ocupam uma pequena parcela da superfície do planeta quando comparados aos marinhos e terrestres, porém a sua importância para o homem é bem maior que sua área, por constituírem uma fonte mais conveniente e barata de água para as necessidades domésticas e industriais (ODUM, 1988). Além disso, são os ambientes mais convenientes de descarte do planeta. As maiores cidades do mundo estão localizadas em áreas próximas a grandes rios e lagos ou estuários, que passam a servir como corpos receptores de esgoto.

Segundo BRAGA *et al.* (2002), é fundamental que os recursos hídricos apresentem condições físicas e químicas adequadas para sobrevivência das comunidades aquáticas. Devem conter substâncias essenciais à vida e estar isentos de outras substâncias que possam produzir efeitos deletérios aos organismos que compõem as cadeias alimentares. Assim, disponibilidade de água significa estar presente não

somente em quantidade suficiente em uma dada região, mas também que a qualidade seja satisfatória para suprir as necessidades de uma determinada biota.

Avaliações da qualidade dos sedimentos devem fazer parte dos programas de monitoramento da qualidade da água. Nos corpos d'água, o sedimento contaminado pode afetar os ecossistemas, os recursos naturais e a saúde humana (CHAPMAN *et al.*, 2002). Os contaminantes, após atingirem o ambiente aquático, tendem a acumular-se nos sedimentos, que passam a funcionar não só como repositório, mas como fonte de contaminação para as cadeias alimentares, tanto para organismos bentônicos (exposição direta), como também para os pelágicos, através da ressuspensão dos contaminantes provocada por atividades biológicas, correntes, tempestades, dragagens, pela troca que existe entre a água intersticial e a água sobrejacente aos sedimentos, ou ainda pela via alimentar (ZAMBONI, 1993 apud ABESSA, 1996).

No Brasil, a preocupação com as questões ambientais é relativamente recente. A conscientização da sociedade e a legislação ambiental têm levado as empresas a uma relação mais sustentável com o meio ambiente. No Brasil, na década de 80, o CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), responsável pela formulação de resoluções que representam importantes instrumentos normativos para a gestão ambiental em busca do crescimento sustentável, publica a resolução que estabelece os padrões de qualidade das águas no território nacional e classifica o recurso em classes de acordo com seu uso e nível de qualidade (CONAMA, 1986). Em 2005 foi publicada uma revisão da Resolução CONAMA nº 20/1986, com várias modificações, inclusive exigindo a realização de ensaios ecotoxicológicos no controle de efluentes líquidos. Esta nova versão citada é a Resolução CONAMA nº 357/2005.

De acordo com TOCCHETTO & PEREIRA (2008) a crescente preocupação com a qualidade ambiental tem levado as indústrias brasileiras a buscarem alternativas tecnológicas mais limpas e matérias primas menos tóxicas, com intuito de reduzir o impacto ambiental e a degradação ambiental. O monitoramento ambiental auxilia no gerenciamento dos recursos naturais, fornecendo informações a respeito da extensão

dos impactos causados pela poluição e avalia a eficiência das medidas mitigatórias adotadas para eliminar ou reduzir os efeitos destes impactos (CHAPMAN, 1989).

Um grande número de xenobióticos potencialmente tóxicos está presente nos ecossistemas, muitas vezes em concentrações que por si só não causam malefícios, mas a partir de interações com outras substâncias podem acarretar danos significativos.

A necessidade de se conhecer os efeitos causados pelos xenobióticos nos ecossistemas aquáticos tem levado ao desenvolvimento de diversos métodos destinados à avaliação dos efeitos biológicos da poluição. Estes métodos, em conjunto com análises químicas, vêm sendo utilizados em um número cada vez maior de estudos ambientais. Esses estudos surgiram para complementar a abordagem da contaminação química nos programas de monitoramento ambiental, realizadas pelas análises químicas, com o desenvolvimento de uma avaliação da poluição com ênfase nos efeitos biológicos (MOORE *et al.*, 1987; BAYNE *et al.*, 1988).

Os estudos destinados à avaliação da qualidade dos ecossistemas, com ênfase nas respostas biológicas dos organismos, levaram ao desenvolvimento de uma ciência denominada Ecotoxicologia, que estuda os efeitos dos contaminantes sobre os seres vivos e os ecossistemas (NEWMAN, 2002). A Ecotoxicologia alerta para os riscos de substâncias químicas, sugerindo a aplicação de medidas preventivas antes que ocorram graves danos aos ecossistemas naturais (PAASIVIRTA, 1991 apud FERNICOLA *et al.*, 2003).

Atualmente, há uma crescente preocupação com a presença de compostos químicos emergentes, ou micropoluentes, como fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCP – “*Pharmaceutical and Personal Care Products*”), em ambientes aquáticos e seus possíveis impactos ambientais, pois pouco é conhecido sobre o efeito dessas substâncias no meio ambiente. Nos últimos anos, grande ênfase tem sido dada a avaliação de impacto no meio ambiente através de dados ecotoxicológicos sobre os compostos químicos emergentes.

Poluentes emergentes podem ser definidos como qualquer substância química natural ou sintética que historicamente não eram monitoradas nem consideradas como poluentes, mas que mesmo em baixas concentrações podem causar riscos à saúde humana e ao meio ambiente (BILA & DEZOTTI, 2006).

Neste sentido, o trabalho visa avaliar os efeitos agudos e crônicos do fármaco Triclosan nos sedimentos e na água, através da resposta de organismos bentônicos e planctônicos.

O Triclosan é uma substância mundialmente utilizada pelo seu mecanismo de efeito antimicrobiano, sendo encontrado em pelo menos 932 produtos como pastas de dentes, anti-sépticos bucais, sabonetes, shampoos, loções, desodorantes, roupas, entre outros, de acordo com a Environmental Working Group (EWG, 2009). Como consequência, vem sendo encontrado freqüentemente em matrizes ambientais (água superficiais e sedimentos), efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE), efluentes industriais e inclusive leite materno. Além disso, a fotodegradação do Triclosan gera como subproduto o dichlorodibenzo-*p*-dioxin (DCDD) (LORES *et al.*, 2005; SANCHEZ-PRADO *et al.*, 2006), o que aumenta ainda mais a preocupação em relação ao uso intensivo desta substância.

Embora o Triclosan seja freqüentemente encontrado em matrizes ambientais, poucos trabalhos reportam sobre os efeitos desta substância na água (ORVOS, 2002; CINIGLIA *et al.*, 2005; LAMEIRA, 2008), além disso, é importante ressaltar que existem poucos dados sobre os efeitos em espécies tropicais. No que se refere aos efeitos da contaminação nos sedimentos, não existem trabalhos reportados na literatura.

A ocorrência de fármacos residuais em águas superficiais e subterrâneas, bem como em sedimentos, demonstra a necessidade de estudos que determinem os efeitos ecotoxicológicos dessas substâncias no ambiente. Devem ser realizadas avaliações dos efeitos agudos e crônicos com diferentes organismos, avaliando diferentes matrizes (água, sedimento, etc.) para se produzir dados suficientes para avaliações de risco destas substâncias (CINIGLIA *et al.*, 2005). Uma vez conhecidos os efeitos, os limites

de concentrações para o descarte seguro de Triclosan em efluentes domésticos tratados em corpos receptores poderão ser estabelecidos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

- Avaliação ecotoxicológica do Triclosan em água e em sedimento enriquecido (“*spiked sediment*”) através de ensaios de ecotoxicidade para avaliação de efeitos agudos e crônicos, utilizando-se como organismos-teste *Ceriodaphnia dubia* e *Chironomus xanthus*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação do efeito agudo do Triclosan para *C. xanthus* em sedimento através de ensaios de ecotoxicidade aguda com sedimento enriquecido;
- Avaliação do efeito crônico do Triclosan para *C. dubia* em sedimentos através de ensaios de ecotoxicidade crônica com sedimento enriquecido;
- Avaliação do efeito crônico do Triclosan para *C. dubia* na água através de ensaios de ecotoxicidade crônica;
- Avaliação do efeito teratogênico do Triclosan para *C. dubia*;
- Avaliação da influência do alimento composto utilizado na dieta de *C. dubia* no efeito crônico do Triclosan através de ensaios de ecotoxicidade crônica;
- Fornecer subsídios para o estabelecimento de padrões aceitáveis de emissão do Triclosan em corpos d’água receptores.

## 3. Revisão Bibliográfica

### 3.1. Ecotoxicologia e Meio Ambiente

Segundo NEWMAN & UNGER (2003), a Ecotoxicologia é uma ciência que estuda os contaminantes e seus efeitos nos constituintes da biosfera, incluindo os seres humanos, com o propósito de se conhecer e/ou avaliar os impactos das atividades humanas no ambiente. É uma ciência multidisciplinar e holística, pois aborda questões como efeitos tóxicos nos níveis celular (bioquímico e fisiológico), individual, e até níveis mais elevados de organização, como populacional, de comunidade, ecossistema e biosfera (NEWMAN & UNGER, *op.cit.*). Além disso, subsidia estudos sobre efeitos e transporte de substâncias químicas no meio ambiente como, por exemplo, especiação, deposição e bioacumulação, e na biosfera, como volatilização de pesticidas, por exemplo. Esta ciência pode ser considerada um dos novos e dinâmicos campos da ciência, preocupada em estudar como os ecossistemas metabolizam, transformam, degradam, eliminam, acumulam e sofrem ação da toxicidade dos produtos químicos que nele penetram (RAND et al., 1995).

Segundo ABESSA (2002), os estudos ecotoxicológicos podem ser empregados com diversas finalidades, dentre os quais se destacam: 1) o conhecimento da qualidade de águas, sedimentos, solos e do ar; 2) os fins de regulação e a definição de limites máximos permissíveis para o lançamento de efluentes e substâncias químicas; 3) as estimativas do efeito de descargas de contaminantes sobre as populações naturais; 4) a definição de áreas críticas; 5) análises de risco ecológico; 6) como integrantes em programas de monitoramento ambiental; 7) a detecção dos primeiros sinais de impacto devido a compostos químicos (“early warning”); 8) fornecer significado biológico para dados de contaminação; 9) servir como prova legal.

Dentro da Ecotoxicologia, os ensaios de ecotoxicidade são consagrados como uma importante ferramenta de controle ambiental, que fornece dados qualitativos e quantitativos sobre os efeitos adversos de estressores ambientais (COONEY, 1995), proporcionando uma evidência direta das conseqüências da contaminação, podendo

ser utilizada para estimar a toxicidade de misturas complexas de contaminantes tanto em fase líquida, como na fase sólida do sedimento (CESAR *et al.*, 2002).

### **3.2. Ensaio de ecotoxicidade**

Para identificar os efeitos de agentes tóxicos e substâncias químicas sobre a biota aquática, têm sido utilizados, nestas últimas décadas, ensaios de ecotoxicidade com organismos de águas continentais, estuarinas e marinhas, em condições laboratoriais e/ou de campo. Esses testes possibilitam estabelecer limites permissíveis para várias substâncias químicas e, ainda, avaliar o impacto de misturas de poluentes sobre os organismos aquáticos dos corpos receptores (BERTOLETTI, 1990).

Ensaio de ecotoxicidade são procedimentos nos quais as respostas de organismos vivos são utilizadas para avaliar a capacidade de substâncias químicas (isoladas ou em combinação) e amostras ambientais de causar efeitos deletérios nos organismos expostos (RAND, 1995).

Entende-se por toxicidade a propriedade inerente de um agente químico que produz efeitos danosos a um organismo quando este é exposto, por certo período, a determinadas concentrações de substâncias químicas, efluentes ou amostras (CETESB, 1990).

Os ensaios de ecotoxicidade podem apresentar dois tipos de efeitos: agudo e crônico. O efeito agudo é observado em curta duração, que se manifesta de maneira rápida e severa, causando a letalidade ou alguma outra manifestação do organismo como, por exemplo, a imobilidade, num intervalo de 0 a 96 horas. O efeito crônico é observado em um longo período do ciclo de vida do organismo, que afeta uma ou várias funções biológicas dos organismos expostos, interferindo, por exemplo, no metabolismo, crescimento e maturação, reprodução, desenvolvimento dos ovos, mutações e até mesmo morte dos organismos-teste após longos períodos de exposição (CETESB, 1990; COONEY, 1995).

Os vários ensaios toxicológicos que dão suporte à avaliação de toxicidade são expressos por curvas que elucidam a relação da dose/concentração de determinado agente, com a resposta observada em determinado organismo, ou população. A relação dose-resposta constitui importante fase da avaliação de risco (HACON, 2003).

A toxicidade das substâncias depende também do tempo de exposição dos organismos. Há várias razões para essa dependência. Alguns xenobióticos não são prontamente eliminados do organismo, assim, a exposição, mesmo que a pequenas doses, podem levar ao acúmulo do agente no organismo em níveis suficientes para exercer efeito tóxico. Outros, embora sejam eliminados com relativa rapidez, exercem efeitos irreversíveis, os quais provocam danos também irreversíveis (USEPA, 1989).

Para o controle ambiental, os ensaios de ecotoxicidade possuem uma série de vantagens como baixo custo, obtenção de respostas rápidas, simplicidade da maior parte dos métodos, fácil interpretação dos resultados e proporciona uma evidência direta das conseqüências da contaminação (CESAR *et al.*, 2002), além de fornecer parâmetros para emissão de poluentes no ambiente. Porém, os ensaios de ecotoxicidade possuem algumas limitações, pois não indicam qual o composto responsável pelo efeito tóxico e a extrapolação dos resultados ao meio ambiente deve ser feita com muita cautela, visto que as condições de realização dos testes em laboratório são diferentes dos complexos processos que ocorrem no ecossistema (KNIE & LOPES, 2004).

### **3.2.1. Ensaio de ecotoxicidade aguda**

Os testes de avaliação da toxicidade aguda são procedimentos nos quais as respostas de organismos vivos permitem avaliar a capacidade de efluentes, amostras ambientais e substâncias químicas (isoladas ou combinadas) solúveis ou dispersas em água, de causar efeitos deletérios sobre os organismos expostos (RAND & PETROCELLI, 1985). O teste agudo é caracterizado por abranger um curto período do ciclo de vida dos organismos-teste.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda são importantes para evidenciar os efeitos letais em curtos intervalos de tempo, fornecendo dados fundamentais para o desenvolvimento e adoção de critérios para melhoria da qualidade ambiental (FONSECA, 1991).

Este teste consiste em expor organismos-teste a diferentes concentrações de uma determinada amostra, por um período entre 0 e 96 horas. Após esse período de exposição, a mobilidade e mortalidade dos organismos são analisadas. O resultado é expresso através da concentração letal mediana (CL50), ou seja, a concentração do agente tóxico que causa letalidade a 50% dos organismos após o período de exposição, ou através da concentração efetiva mediana (CE50), que é a concentração do agente tóxico que causa imobilidade a 50% dos organismos expostos. A concentração efetiva é a considerada mais significativa para ser extrapolada a uma população (CETESB, 1990).

### **3.2.2. Ensaios de ecotoxicidade crônica**

Os testes de avaliação da toxicidade crônica são procedimentos que permitem avaliar os efeitos sub-letais de efluentes, amostras ambientais e substâncias químicas (isoladas ou combinadas) solúveis ou dispersas em água (RAND & PETROCELLI, 1985).

Através dos dados de mortalidade e fecundidade, por exemplo, é possível determinar o CENO (Concentração de Efeito Não Observado) e CEO (Concentração de Efeito Observado), onde CENO é a maior concentração do agente tóxico, onde não se observam efeitos deletérios estatisticamente significativos na sobrevivência e reprodução dos organismos, durante o período de exposição, que podem abranger parte ou todo o ciclo de vida dos organismos-teste. CEO significa a menor concentração do agente tóxico, onde efeitos deletérios estatisticamente significativos são observados na sobrevivência e reprodução dos organismos.

### 3.2.3. Organismos-Teste

Várias espécies de organismos vêm sendo empregadas em ensaios de ecotoxicidade, gerando subsídios importantíssimos para uma melhor avaliação e caracterização dos efeitos agudos e crônicos de substâncias e de matrizes ambientais.

Testar todas as espécies aptas para bioensaios excede a capacidade de qualquer laboratório, não sendo praticável por razões técnicas e econômicas. Portanto, é recomendado sempre que possível, a utilização de 3 organismos de diferentes níveis tróficos ou 3 vias de exposição diferentes para se caracterizar a toxicidade de uma substância, possibilitando assim, uma melhor caracterização do grau de toxicidade do efluente, corpo receptor ou amostra (RAND & PETROCELLI, 1985), obtendo-se resultados ecologicamente mais relevantes. Isto porque não existe uma única espécie de organismo-teste que represente integralmente os efeitos causados em um determinado ecossistema.

Dentre os principais grupos de organismos, utilizados em ensaios laboratoriais, destacam-se bactérias, microalgas, microcrustáceos, equinóides e peixes.

A escolha de um organismo-teste é um fator essencial para o desenvolvimento de ensaios de ecotoxicidade. Para a escolha do organismo-teste geralmente usam-se os seguintes critérios de seleção: espécie cosmopolita, significativa representatividade ecológica, além de possuírem características como fácil amostragem, baixa variabilidade genética, mobilidade limitada, fácil cultivo em laboratório com custos relativamente baixos, sensíveis a vários contaminantes no meio entre outros (EPA, 2002b).

### 3.2.4. Sedimento Enriquecido – “*spiked sediment*”

Este método envolve a adição de uma ou mais substâncias químicas em amostras de sedimento em diferentes concentrações para avaliação dos efeitos do composto testado sobre os organismos expostos, através de ensaios de ecotoxicidade (EPA, 2001; OECD, 2004; SIMPSON *et al.*, 2005).

A contaminação do sedimento pode ser feita por adição direta do composto ao sedimento, ou por adição na coluna d'água, com um intervalo de tempo para se atingir o equilíbrio água/sedimento. Os efeitos sobre a comunidade bentônica, ou seja, os organismos que habitam o sedimento aquático ou a superfície deste, são determinados a partir da exposição de um número conhecido de organismos bentônicos. Além disso, este método inclui testes com organismos planctônicos para se avaliar os efeitos da biodisponibilização de contaminantes para coluna d'água.

As respostas biológicas a serem observadas são mortalidade, mudanças na reprodução, alterações fisiológicas, morfológicas ou de comportamento dos organismos expostos no sedimento controle e no sedimento marcado.

Existem relativamente poucos trabalhos reportados na literatura utilizando esta metodologia para avaliação de efeito dos contaminantes. PÉRY *et al.*, (2003), avaliou o crescimento e desenvolvimento de emergências de *Chironomus riparius* expostos a sedimentos marcados com cobre. Em 2008, ALVES e colaboradores avaliaram o comportamento, a bioacumulação e a toxicidade de sedimentos marcados com urânio para *Hyaella azteca*.

No Brasil, o primeiro trabalho com “*spiked sediment*” foi realizado por SILVÉRIO (2003), onde através de testes de toxicidade com *Hyaella azteca* e *Tubifex tubifex*, foram levantados dados para uma derivação de Valores Guias de Qualidade de Sedimento (VGQS) para metais como Cd, Cu, Pb, Ni e Zn como parte do *Projeto QualiSed*. Os resultados de VGQS foram semelhantes aos guias de qualidade dos sedimentos do Canadá. O Projeto QualiSed tem como objetivo formar a base para a proposição de um programa de avaliação integrada e hierárquica da qualidade de sedimentos. Em 2005, também no Brasil, SILVA (2005) utilizou “*spiked sediment*” para avaliar a toxicidade aguda do agrotóxico Permetrina para *Chironomus xanthus*.

### 3.3. Fármacos nos Ecossistemas Aquáticos

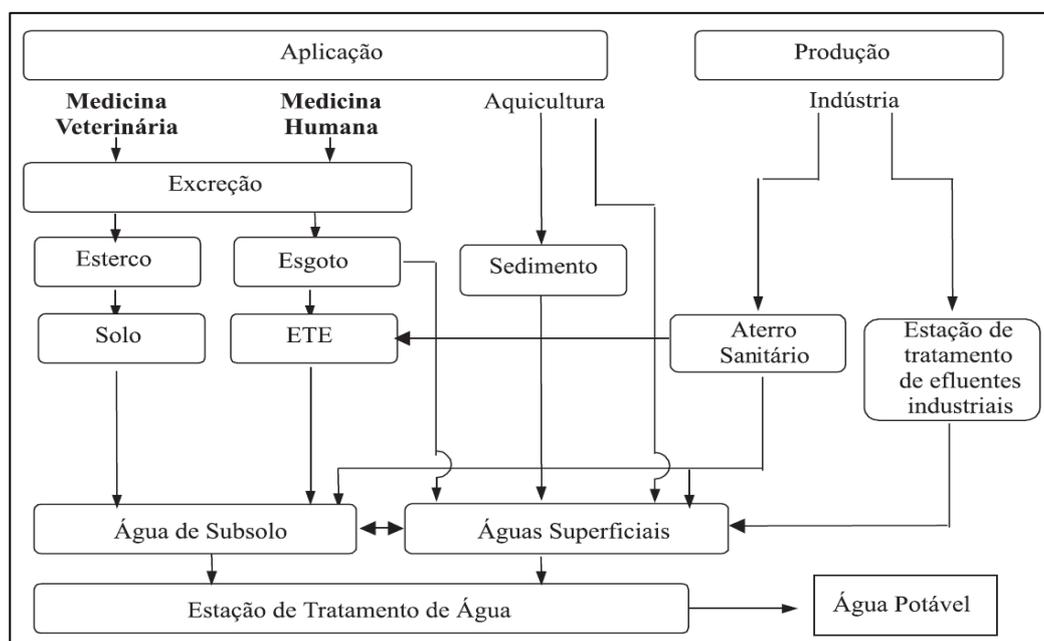
A presença de fármacos no ambiente têm-se configurado como um importante tópico das ciências ambientais em fóruns internacionais, pois algumas toneladas de medicamentos são produzidas por ano e aplicadas na medicina humana e veterinária.

Há poucos anos atrás, os fármacos e produtos de cuidados pessoais não eram considerados poluentes e não faziam parte dos programas de monitoramento ambiental, devido ao fato destes compostos ocorrerem em concentrações muito baixas no ambiente, não sendo detectados pelos métodos analíticos disponíveis na época. Porém, o desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis propiciou um aumento significativo do número de trabalhos com fármacos na última década.

Estes micropoluentes são desenvolvidos para serem persistentes, mantendo suas propriedades químicas o bastante para servirem a um propósito terapêutico (MULROY, 2001), o que acarreta em um maior tempo de degradação destes no ambiente.

Estudos demonstram que cerca de 50% a 90% de uma dosagem de fármaco é excretada de forma inalterada no meio ambiente (MULROY, 2001) e nele persiste. Estes compostos estão presentes nos ecossistemas aquáticos, sendo os esgotos domésticos, tratados ou não, uma das principais vias de entrada destes compostos. A Figura 1 apresenta algumas possíveis rotas de exposição de fármacos no ambiente.

Recentemente o monitoramento de fármacos e produtos de cuidado pessoal no meio ambiente vem ganhando grande interesse devido ao fato de muitas dessas substâncias serem freqüentemente encontradas em matrizes ambientais como águas superficiais e sedimentos, além de efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e Estações de Tratamento de Água (ETAs) no mundo todo, inclusive no Brasil, em concentrações na faixa de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e  $\text{ng.L}^{-1}$ .



**Figura 1** – Possíveis rotas de fármacos e PPCPs no meio ambiente (Fonte: BILA & DEZZOTI, 2003).

Em estudo realizado por HIRSCH *et al.* (1999), foi constatado a presença de diversos antibióticos utilizados tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária em efluentes de ETEs e águas superficiais na Alemanha. TERNES *et al.* (1999), quantificaram hormônios como estrona,  $17\beta$ -estradiol,  $17\alpha$ -ethinylestradiol e  $16\alpha$ -hydroxyestrone presentes em rios e ETEs na Alemanha, Canadá e Brasil. A concentração máxima de estrona encontrada em ETEs foi de  $70 \text{ ng.L}^{-1}$  na Alemanha e  $40 \text{ ng.L}^{-1}$  no Rio de Janeiro, Brasil.

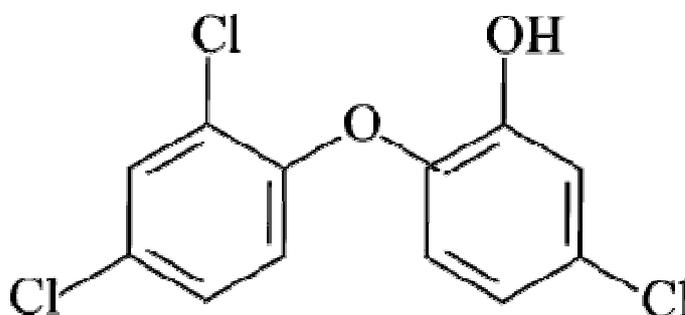
Em 1999, STUMPF e colaboradores avaliaram diversos anti-inflamatórios em quantidades que variaram de  $0,1$  a  $1 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$  no rio Paraíba do Sul, no Rio de Janeiro, Brasil. Foi constatado ainda que, entre os efluentes das 10 ETEs amostradas, o nível de remoção dos fármacos variou de 12 a 90%. A ocorrência de fármacos também foi relatada na região de Campinas. SODRÉ *et al.*, 2007 encontrou  $17\beta$ -estradiol,  $17\alpha$ -ethinylestradiol, entre outros compostos, nas águas superficiais da Região Metropolitana de Campinas, na bacia do rio Atibaia.

Mesmo em baixas concentrações, efeitos adversos à biota são observados com a presença de fármacos no ambiente. GAGNÉ *et al.* (2006), verificaram a ocorrência de fármacos em estação ETEs localizadas no rio St. Lawrence no Canadá, onde foram encontrados cafeína ( $22 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), Ibuprofen ( $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e Carbamazepan ( $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), entre outros. Neste mesmo trabalho, foi avaliada a toxicidade para peixes através do uso de biomarcadores, onde os resultados sugeriram que mesmo baixas concentrações de PPCPs poderiam influenciar o metabolismo em células do fígado, conduzindo-as a um dano oxidativo.

O aumento da ocorrência de PPCPs no ambiente aquático causa efeitos adversos à saúde humana e às comunidades aquáticas. O risco ambiental dos PPCPs juntamente com a proliferação do uso de compostos orgânicos sintéticos desencadeou uma grande preocupação com o potencial tóxico para a biota aquática.

### 3.4. Triclosan

O Triclosan (Figura 2) é um fármaco (SETAC, 2005) mundialmente utilizado pelo seu mecanismo de efeito bactericida, sendo encontrado em pelo menos 932 produtos de grandes companhias, como pastas de dentes, sabonetes, cremes para pele, xampus, loções, desodorantes, sapatos, roupas esportivas, entre outros, de acordo com a EWG - Environmental Working Group (2008). Várias das grandes companhias citadas pela EWG estão entre as 100 maiores marcas mundiais, segundo levantamento feito pela consultoria de marcas Interbrand em parceria com a revista americana "Business Week" em 2007.



**Figura 2** – Estrutura molecular do Triclosan (5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol).

O composto orgânico Triclosan também é conhecido como: Irgasan DP 300, Irgacare MP, Lexol 300, Ster-Zac, Cloxifenolum, Irgagard® B 1000 e 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi) – fenol (TIXIER *et al.*, 2002).

O Triclosan vem sendo freqüentemente encontrado em matrizes ambientais (água superficiais e sedimentos) (LINDSTRÖM *et al.*, 2002; TIXIER *et al.*, 2002; AGÜERA *et al.*, 2003; SABALIUNAS *et al.*, 2003; BENDZ *et al.*, 2005; HUA *et al.*, 2005; HALDEN & PAULL, 2005; NISHI *et al.*, 2008; XIE *et al.*, 2008), amostras de efluentes de estações de tratamento de esgoto (ETE) e efluentes industriais tratados (REISS *et al.*, 2002;; BENDZ *et al.*, 2005; HUA *et al.*, 2005; THOMAS & FOSTER, 2005; BLAISE *et al.*, 2006; WALTMAN *et al.*, 2006; KUSTER *et al.*, 2008), inclusive em amostras de leite materno (ADOLFSSON-ERICI *et al.*, 2002; ALLMYR *et al.*, 2006). De acordo com DAYAN (2007), embora o Triclosan seja encontrado no leite materno em baixas concentrações (7,4 µg/kg/d.), não existem evidências de risco aos recém-nascidos.

No Brasil existem apenas dois trabalhos onde foram avaliados os efeitos do Triclosan em organismos aquáticos. LAMEIRA (2008) avaliou os efeitos deste composto na reprodução de *Ceriodaphnia silvetrii* (0,04 mg.L<sup>-1</sup>) e constatou ainda malformações em neonatas geradas em testes de toxicidade crônica com *Daphnia similis* (IC50 relativo à malformações 0,057mg.L<sup>-1</sup>). Já CORTEZ *et al.* (2008), observaram anomalias no desenvolvimento embrio-larval do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* através de ensaios de ecotoxicidade crônica de curta duração.

Na Tabela I são apresentados alguns resultados de toxicidade do Triclosan reportados na literatura.

**Tabela I** - Resultados de toxicidade do Triclosan reportados na literatura.

| ORGANISMO-TESTE                        | ESTIMATIVA | ENDPOINT                     | PERÍODO DE EXPOSIÇÃO | RESULTADO (mg.L <sup>-1</sup> ) | REFERÊNCIA                            |
|--|------------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| <b>ALGAS</b>                           |            |                              |                      |                                 |                                       |
| <i>Scenedesmus subspicatus</i>         | CE 50      | Crescimento                  | 72 h                 | 0,0028                          | Orvos (2002)                          |
| <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> | CE 50      | Crescimento                  | 96 h                 | 0,0044                          | Orvos (2002)                          |
| <i>Closterium ehrenbergii</i>          | CE 50      | Crescimento                  | 96 h                 | 0,5                             | Ciniglia <i>et al.</i> (2005)         |
|  | -          | Efeito genotóxico            | 96 h                 | 0,25                            | Ciniglia <i>et al.</i> (2005)         |
| <b>EQUINODERMAS</b>                    |            |                              |                      |                                 |                                       |
| <i>Lytechinus variegatus</i>           | IC 50      | Desenvolvimento embriolarval | 24 h                 | 0,14                            | Cortez <i>et al.</i> (2008)           |
| <b>CRUSTÁCEOS</b>                      |            |                              |                      |                                 |                                       |
| <i>Ceriodaphnia dubia</i>              | CE 50      | Imobilidade                  | 48 h                 | 0,08                            | Lameira (2008)                        |
| <i>Ceriodaphnia silvestrii</i>         | CE 50      | Imobilidade                  | 48 h                 | 0,09                            | Lameira (2008)                        |
| <i>Daphnia similis</i>                 | CE 50      | Imobilidade                  | 48 h                 | 0,22                            | Lameira (2008)                        |
| <i>Daphnia magna</i>                   | CE 50      | Imobilidade                  | 48 h                 | 0,39                            | Orvos (2002)                          |
| <b>PEIXES</b>                          |            |                              |                      |                                 |                                       |
| <i>Poecilia reticulata</i>             | LE 50      | Mortalidade                  | 96 h                 | 0,36                            | Pesticide Ecotoxicity Database (2000) |
|  | CENO       | Crescimento                  | 61-d                 | 0,034                           | Orvos (2002)                          |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i>             | CEO        | Crescimento                  | 61-d                 | 0,071                           | Orvos (2002)                          |
|  | CE 50      | Mortalidade                  | 96 h                 | 0,36                            | Pesticide Ecotoxicity Database (2000) |

### 3.5. Legislação

Embora os ensaios de ecotoxicidade tenham sido padronizados pela CETESB em meados da década de 80, eles só passaram a ser exigidos pela legislação estadual de São Paulo no ano 2000, através da Resolução SMA N.º 03/2000. Em 2005 os ensaios de ecotoxicidade ganharam projeção nacional, ao serem introduzidos na revisão da Resolução CONAMA N.º 20/1986. Esta nova versão citada, é a Resolução CONAMA N.º 357/2005, que passa a exigir os ensaios ecotoxicológicos no controle de efluentes líquidos e na avaliação dos corpos hídricos.

No que diz respeito à qualidade dos sedimentos, embora a Resolução CONAMA N.º 344/2004 (único documento legal no Brasil que se refere à contaminação de

sedimentos) tenha instituído a complementação das análises ecotoxicológicas na avaliação do material dragado de corpos d'água doce, salina e salobra, os limites de concentração de algumas substâncias são baseados em legislações estrangeiras, restringindo uma análise segura por não ter valores particulares estabelecidos no nosso território nacional.

No Brasil existem diversas regiões com vários habitats e climas diferentes. Desta forma, os limites deveriam ser implementados baseando-se em trabalhos realizados por nossas instituições, pois temos condições e conhecimento suficiente para obter dados que correspondam de maneira mais significativa aos nossos ecossistemas, e instituir valores adequados à legislação do nosso país. Deve-se ressaltar ainda que, em um determinado país, o conhecimento científico deve estar contemplado na esfera federal, onde a adoção de padrões de qualidade pode ser mais ou menos restritiva, dependendo das situações locais.

Recentemente entrou em vigor no Estado de São Paulo a Resolução SMA N.º 37/2006 que busca a maior confiabilidade dos resultados de ensaios biológicos, que só serão aceitos quando realizados por laboratórios de ensaio acreditados por parâmetros determinados por normas específicas a esta legislação. Isso beneficia a qualidade dos ensaios e a credibilidade de laboratórios pelo Estado.

Na Europa existem diversas leis de controle de poluição das águas. A Alemanha e França, por exemplo, possuem leis específicas para limites permissíveis de toxicidade estabelecidos para as diferentes categorias industriais e corpos receptores. Embora em alguns países como Holanda, Inglaterra, Itália, Portugal e Suécia, o nível de implementação dos ensaios de ecotoxicidade no controle da poluição industrial seja baixo, todos possuem programas de monitoramento ambiental no qual utilizam testes ecotoxicológicos com peixes, microcrustáceos e algas (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Os fármacos e os produtos de higiene e cuidados pessoais (PPCPs) não estão contemplados nas legislações ambientais vigentes, tanto brasileiras como internacionais. No Brasil a Resolução CONAMA N.º 358/2005, que dispõe sobre o

tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde, exige apenas que os resíduos gerados sejam descartados de maneira adequada, ficando a critério de quem os produz qual o tratamento e descarte adequado. Uma vez comercializados os produtos, eles são descartados sem qualquer critério.

## 4. Metodologia

### 4.1. Cultivo e manutenção de organismos

#### 4.1.1. *Ceriodaphnia dubia*

O gênero *Ceriodaphnia* é cosmopolita e importante no elo da cadeia alimentar em águas continentais. Possui baixa variabilidade genética, mobilidade limitada, fácil cultivo em laboratório com custos relativamente baixos e é sensível a vários contaminantes.

O cladócer *Ceriodaphnia dubia* têm sido utilizado como organismo-teste pela CETESB desde 1985 e é uma espécie padronizada em norma da ABNT (2005), apesar desses organismos não ocorrerem naturalmente em regiões tropicais. *Ceriodaphnia dubia* tem sido relatada em áreas litorâneas de lagos, lagoas e pântanos na maior parte do mundo, mas é difícil determinar a sua distribuição real, pois ela tem sido relatada na literatura sob vários outros nomes (*C. affinis*, *C. quadrangula*, *C. reticulata*) (EPA, 2002a).

##### 4.1.1.1. Água de cultivo

A água de diluição utilizada para testes e cultivos foi de fonte natural, filtrada em rede de plâncton com malha de 45  $\mu\text{m}$  e com dureza ajustada entre 40-48  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{CaCO}_3$ . Após o ajuste da dureza, a água permanece aerando por um período mínimo de 24 horas para total diluição dos sais (ABNT, 2005).

A água utilizada nos cultivos e testes foi periodicamente coletada (a cada 20 dias aproximadamente) no Reservatório de Ribeirão do Piraí (Figuras 3 e 4), localizado no município de Salto de Itu, SP. Este ponto de coleta foi escolhido por ser monitorado pelo Laboratório de Ecotoxicologia do IPEN há quase uma década e, além disso, este reservatório é destinado ao abastecimento público.

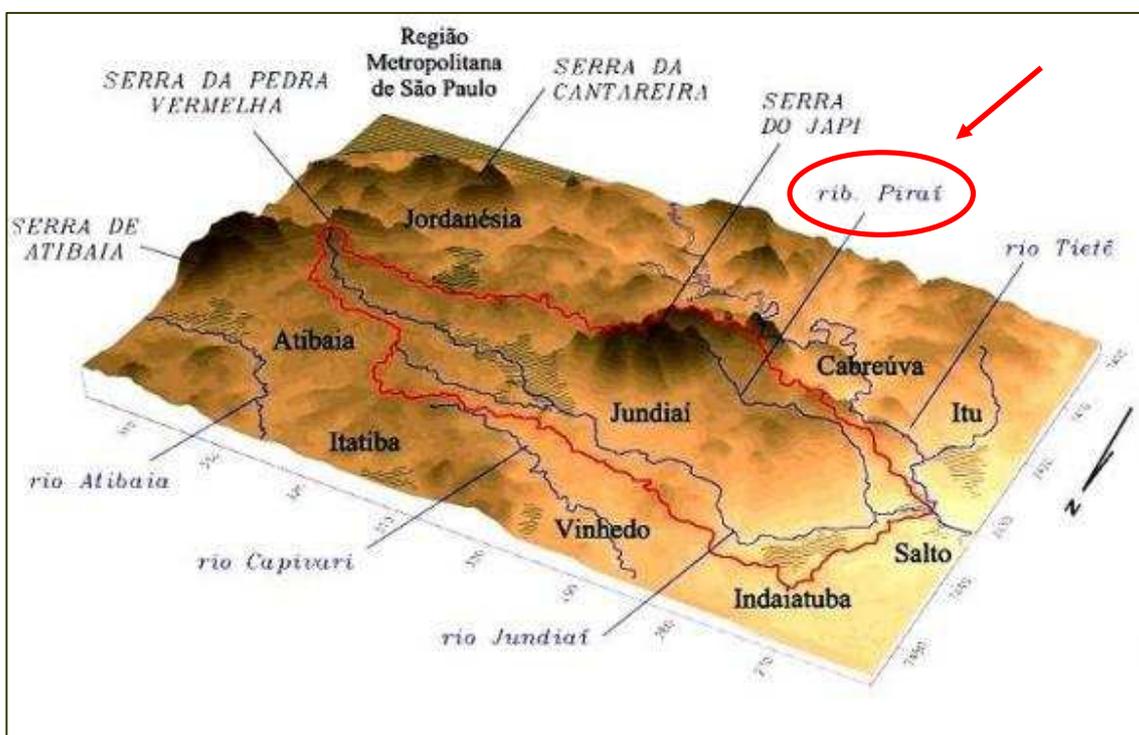


Figura 3 – Modelo digital do terreno da Bacia do Rio Jundiá com destaque do ponto de coleta de água no Reservatório de Ribeirão do Pirai. Fonte: NEVES & PEREIRA (2005);



Figura 4 – Foto do ponto de coleta de água no reservatório Ribeirão do Pirai.

Os valores de pH e temperatura foram ajustados no momento da utilização da água. A água utilizada para os testes e cultivos teve seu pH ajustado para 7,3 ( $\pm 0,3$ ), medido em pHmetro da marca Orion, modelo 150, e sob temperatura de 25°C ( $\pm 2$ ). A condutividade elétrica foi aferida com o auxílio de um condutivímetro da marca Orion, modelo 420A, e deve estar em volta de 160  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . O oxigênio dissolvido (O.D.) foi medido com auxílio de um aparelho da marca YSI 5100, com eletrodo YSI 5010 BOD Probe, e manteve-se entre 5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  e 8,5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (ABNT, 2005).

#### **4.1.1.2. Teste de viabilidade da água de cultivo**

Testes de viabilidade da água fazem parte da rotina do laboratório de Ecotoxicologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), e foram realizados a cada lote novo de água. O teste foi realizado em 5 réplicas e consistiu em expor 10 organismos neonatos por réplica à água a ser testada, sem alimento e sem aeração, e mantido em incubadora com temperatura controlada por um período de 48 horas. O lote de água é aceitável para uso nos testes e cultivos caso a imobilidade dos organismos expostos não exceder a 10% (ABNT, 2005).

#### **4.1.1.3. Alimento**

A alga utilizada como alimento foi a clorofícea *Pseudokirchineriella subcapitata*, na concentração de  $2 \times 10^5$  células/mL por organismo/dia. A alga foi cultivada em meio L.C. Oligo, sob aeração e iluminação constantes, à intensidade luminosa de 2800 lux, e temperatura média de 24°C ( $\pm 2$ ). Os organismos receberam como um complemento alimentar uma ração composta à base de ração de peixe, combinada com fermento biológico Dr. Oetker® fermentado, com teor de sólidos em suspensão calculado em 0,045  $\text{g}/\text{mL}^{-1}$ . Os organismos foram alimentados diariamente conforme recomendação da ABNT (2005).

#### **4.1.1.4. Condições de cultivo**

As culturas foram mantidas em incubadoras, com intensidade luminosa de 500 a 1000 lux, fotoperíodo de 16 horas-luz, à temperatura de 25°C ( $\pm 2$ ).

#### **4.1.1.5. Manutenção dos cultivos**

Os cultivos populacionais de *C. dubia* foram mantidos em béqueres com 1000 mL de água de diluição e 50 indivíduos no início de cada lote. A manutenção dos cultivos foi feita 3 vezes por semana, quando transferiu-se todos os organismos para um béquer limpo com água de diluição renovada, ajustada e com alimento.

A transferência dos organismos foi feita com o auxílio de uma pipeta de Pasteur com diâmetro grande suficiente para evitar o estresse ou até mesmo danos físicos dos organismos durante o manuseio.

A EPA (2002a) recomenda que se mantenham cultivos com idades variáveis, de maneira que o laboratório sempre tenha animais de todas as idades, o que assegura a reciclagem dos cultivos. Semanalmente, na repicagem dos cultivos, a cultura mais antiga foi descartada, dando origem a uma nova com indivíduos jovens.

Os cultivos individuais foram mantidos para servir de fonte de neonatas para os ensaios de ecotoxicidade crônica utilizando-se béqueres de 50 mL com volume final igual a 30 mL de água de diluição, com apenas 1 organismo por béquer. A manutenção destes cultivos foi realizada da mesma forma que os cultivos populacionais.

#### **4.1.1.6. Teste de sensibilidade**

O método consistiu em expor fêmeas jovens de *Ceriodaphnia dubia* a 5 concentrações diferentes de uma substância de referência, no caso Cloreto de Sódio, mais um controle, por um período de 48 horas. Os testes foram realizados em tubos de ensaio aferidos para 10 mL, com 4 réplicas para cada concentração e 5 organismos em cada tubo de ensaio.

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade devem se encontrar dentro dos limites da carta-controle estabelecida para o laboratório.

#### **4.1.2. *Chironomus xanthus***

*Chironomus xanthus* (Diptera: Chironomidae) tem a fase larval no fundo dos lagos ou associada à vegetação, presa aos caules e folhas de plantas ou no interior de tubos que constroem fixando partículas do fundo à seda secretada por suas glândulas salivares. Por meio de ondulações do corpo a água flui através do tubo, permitindo a passagem de partículas orgânicas e algas que constituem seu principal alimento.

Nos ambientes aquáticos as larvas colonizam basicamente o sedimento e a vegetação aquática, mostrando ampla faixa de condições nas quais podem viver, o que reflete a elevada capacidade adaptativa do grupo.

##### **4.1.2.1. Cultivo e Manutenção**

A manutenção dos cultivos e ensaios de ecotoxicidade com *C. xanthus* foram realizados de acordo com os procedimentos descritos por SILVA (2005), modificados a partir de procedimentos da EPA (2000) e OECD (2004). Os cultivos de *C. xanthus* foram mantidos em bandejas plásticas com uma camada de sedimentos no fundo (0,5 cm) e 3 litros de água destilada reconstituída com dureza de 10 mg.L<sup>-1</sup> de CaCO<sub>3</sub> e pH 7,0. As culturas foram mantidas sob aeração constante, fotoperíodo de 16 horas-luz e temperatura na faixa de 24°C (±1°C).

A manutenção dos cultivos foi feita a cada dois dias, quando ocorria troca de aproximadamente 50% do volume de água e os organismos eram alimentados com ração TertraFin<sup>®</sup> 50 g.L<sup>-1</sup>. O número de indivíduos e desovas foram registrados à cada manutenção. O cultivo das larvas foi realizado a partir das desovas coletadas no primeiro dia da semana. Após seis dias as larvas começavam a ser alimentadas em dias alternados (segundas, quartas e sextas). Antes das larvas se transformarem em pupa (14 dias aproximadamente), um número de no máximo vinte larvas foram transferidas para a cultura nas bandejas cobertas com telas de nylon para evitar a evasão e acasalamento.

#### 4.1.2.2. Alimentação

O alimento foi preparado com ração para peixes TetraFin<sup>®</sup>, na proporção de 50 g.L<sup>-1</sup> com validade de 15 dias. Para o preparo do alimento macerou-se 5 gramas de ração em um cadinho de porcelana, até obter um pó fino, onde foi adicionado 100 mL de água destilada e mantido em geladeira a temperatura de 4°C (±2°C). Os cultivos de *C. xanthus* foram alimentados três vezes por semana com 5 mL da ração preparada, assim como os cultivos de larvas, porém na alimentação das larvas houve aumento gradual do volume de ração de acordo com o desenvolvimento dos organismos (1 a 3 mL).

#### 4.1.2.3. Testes de sensibilidade

Os testes de sensibilidade com *C. xanthus* foram realizados com Cloreto de Sódio como substância de referência. Os procedimentos para realização dos ensaios estão descritos no item Teste definitivo (4.2.2.2.1.).

Os resultados obtidos nos testes de sensibilidade devem se encontrar dentro dos limites da carta-controle estabelecida para o laboratório.

### 4.2. Avaliação da toxicidade do Triclosan

#### 4.2.1. Substância-teste

O Triclosan é um composto orgânico, de baixa volatilidade, lipofílico e possui massa molecular de 289,5 g.mol<sup>-1</sup>. Por ser um composto hidrofóbico, necessita do uso de solventes para sua diluição em água, sendo recomendada pelo fabricante (Merck<sup>®</sup>) a utilização de solventes como Etanol ou DMSO (Dimethyl sulfoxide). Segundo ZHANG (2003), o Etanol utilizado como solvente pode interferir na toxicidade crônica dos organismos, aumentando a fecundidade, a produção de machos e, aumentando a toxicidade de alguns produtos. Estudos recentes com Triclosan (ISHIBASHI, 2004; LAMEIRA *et al.*, 2007; CORTEZ *et al.*, 2008; LAMEIRA, 2008) têm utilizado DMSO

como solvente devido ao fato de não causar interferência na toxicidade do Triclosan. No presente trabalho optou-se pela utilização do DMSO.

O Triclosan utilizado nos testes, de procedência da Merck®, foi adquirido na forma de pó branco, com uma pureza  $\geq 97\%$ , com número de identificação CAS 3390-34-5, catálogo nº 647950 e número RTECS K01100000. O solvente DMSO ( $C_2H_6OS$ ), de procedência da Merck®, foi adquirido na forma líquida transparente, tendo número de identificação CAS 67-68-5 e catálogo nº 317275.

As Fichas de Informação e Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) do Triclosan e do DMSO encontram-se no Anexo 1.

#### **4.2.2. Avaliação da toxicidade em sedimentos**

##### **4.2.2.1. “Spiked sediment”**

Este método envolve a adição de uma ou mais substâncias químicas em amostras de sedimento formulado para avaliação dos efeitos do composto testado sobre os organismos expostos. Os protocolos empregados para o preparo (formulação), equilíbrio e mistura do sedimento com o composto foram embasados nos guias orientativos da USEPA (2001), OECD (2004) e em SIMPSON *et al.* (2005).

##### **4.2.2.1.1. Preparação do sedimento para o teste**

A técnica utilizada é denominada “*slurry spiking*” e consiste na adição de 250 g de sedimento seco em um béquer de 500 mL, e em seguida é adicionado ao sedimento 25 mL da solução de Triclosan e DMSO na concentração desejada. O recipiente com a mistura de sedimento e solução de Triclosan foi agitado vigorosamente por 60 segundos, duas vezes ao dia, por um período de 7 dias em ambiente com temperatura controlada (aproximadamente 4°C) e sem iluminação (FRANCIS *et al.*, 1984).

O sedimento utilizado deve estar livre de contaminantes que possam interferir na toxicidade do composto e, para isso, os sedimentos foram calcinados a 550°C por 2 horas para eliminação da matéria orgânica. Após esse procedimento, a OECD (2001)

sugere a adição de 2% ( $\pm 0,5\%$ ) de matéria orgânica no sedimento. No presente trabalho, optou-se pela utilização de húmus cedido pela Tecam Laboratórios, pois estes são livres de contaminantes e são utilizados para cultivo de minhocas em testes para avaliação da toxicidade de produtos químicos (OECD, 1984).

Após o procedimento de mistura, foi adicionado ao sedimento marcado água de cultivo seguindo a proporção definida pelo método de ensaio (1sedimento/4água). Os frascos-teste foram colocados em câmara com temperatura controlada ( $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ ) por 24 horas (equilíbrio) até o início dos ensaios.

#### **4.2.2.1.2. Coleta de sedimento**

As amostras de sedimento natural utilizadas neste trabalho foram coletadas próxima à Represa do Broa, localizada no município de São Carlos, São Paulo. Em laboratório, o sedimento passou por uma peneira de 2 mm, foi lavado com água corrente e calcinado a  $550^{\circ}\text{C}$  por duas horas para a completa eliminação da matéria orgânica. Este sedimento é o mesmo utilizado em cultivos de *Chironomus xanthus* do Laboratório de Ecotoxicologia do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, da Universidade de São Carlos – UFSCAR e pela Escola de Engenharia de São Carlos – USP.

#### **4.2.2.1.3. Caracterização do sedimento**

As análises químicas de metais (Mg, Al, P, K, Ca, V, Cr, Mn, As, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Pb, Ba, Hg) presentes nos sedimentos foram realizadas através da técnica de espectroscopia de emissão atômica por plasma de argônio induzido (ICP-OES). A análise de distribuição granulométrica de massa, segundo intervalos definidos na escala de Wentworth, foi realizada seguindo os procedimentos descritos na Norma Técnica da CETESB L6.160 (1995). As análises químicas e de distribuição granulométrica dos sedimentos foram realizadas pelo Laboratório de Análises Químicas e Ambiental do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN.

#### **4.2.2.2. Ensaio de ecotoxicidade aguda nos sedimentos com *Chironomus xanthus*.**

O teste consistiu em expor larvas de *C. xanthus* às soluções-teste (amostra de sedimento e água de diluição) e avaliar os dados de sobrevivência após um período de 96 horas de exposição. Os procedimentos para avaliação da toxicidade aguda no sedimento utilizando-se *C. xanthus* como organismos-teste seguiram a metodologia descrita em SILVA (2005), modificados a partir de procedimentos da EPA (2000) e OECD (2004).

De acordo com o intervalo de concentrações estabelecido no teste preliminar, foi preparada uma série de soluções-teste intermediárias de razão de diluição de 1,2. Foram utilizadas concentrações de 24,11; 28,93; 34,72; 41,66 e 50,0 mg.Kg<sup>-1</sup>. Além disso, foram realizados dois controles, sendo um controle só com água e mais um controle com DMSO na concentração mais alta do solvente utilizado nos testes. Para cada concentração foram feitas 10 réplicas.

##### **4.2.2.2.1. Preparo das soluções-teste**

Após o sétimo dia de marcação do sedimento, as amostras foram colocadas nas câmaras-teste e logo após, a água de diluição foi adicionada na proporção de 1:4, respectivamente (5g/20mL). O teste de toxicidade aguda com *C. xanthus* foi realizado em béqueres de 30 mL com volume final de solução-teste de 20 mL. O preparo ocorreu 24 horas antes de se iniciar o experimento para possibilitar a sedimentação das amostras e permitir que o equilíbrio água/sedimento se estabeleça.

As características físico-químicas (pH, oxigênio dissolvido e condutividade) da água de diluição foram medidas no início e no final do teste.

##### **4.2.2.2.2. Montagem do teste**

Após as 24 horas do preparo das soluções-teste, foram adicionados 1 organismo para cada béquer (10 réplicas), sendo transferidos de maneira aleatória para os béqueres com auxílio de uma pipeta de Pasteur.

#### 4.2.2.2.3. Condições para realização dos testes

O teste foi mantido sob temperatura controlada de 25°C ( $\pm 1$ ), com fotoperíodo de 16 horas-luz. Os organismos foram alimentados na montagem do teste e no segundo dia com 0,10 mL de ração (50 g.L<sup>-1</sup> TetraFin®). A Tabela II apresenta um resumo da metodologia do teste. As fichas dos ensaios de ecotoxicidade aguda do Triclosan em sedimentos para *Chironomus xanthus* encontram-se no Anexo 2.

**Tabela II** – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade aguda do Triclosan em sedimento para *Chironomus xanthus*.

| Parâmetros                    | Condições   |
|-------------------------------|---|
| Tipo de teste                 | Estático  |
| Diluições                     | Controle e 5 concentrações                            |
| Substância                    | Triclosan   |
| Temperatura                   | 25 $\pm$ 1°C  |
| Fotoperíodo                   | 16 h luz  |
| Idade do organismo            | 7 dias (2º para o 3º ínstar)                          |
| Câmara teste                  | Béquers de 30 mL                                      |
| Volume de água                | 20 mL   |
| Nº de organismos/câmara       | 1   |
| Nº de réplicas por tratamento | 10  |
| Alimentação                   | 0,10 mL (50 g.L <sup>-1</sup> TetraFin®) no dia 0 e 2 |
| Substrato                     | 5g de sedimento                                       |
| Água de diluição              | Água de cultivo                                       |
| Duração do teste              | 96 h  |
| Parâmetro Analisado           | Letalidade (CL50)                                     |

#### 4.2.2.3. Avaliação da toxicidade crônica no sedimento com *C. dubia*

O teste consistiu em expor neonatos de *C. dubia* às soluções-teste (amostra de sedimento e água de diluição) e avaliar os dados de sobrevivência e reprodução após um período de 7 dias de exposição. Os procedimentos para avaliação da toxicidade crônica no sedimento utilizando-se *C. dubia* como organismos-teste seguiram a metodologia descrita em BURTON & MACPHERSON (1995). As primeiras quarenta e oito horas do teste foram utilizadas para avaliar os efeitos agudos.

De acordo com o intervalo de concentrações estabelecido no teste preliminar, foi preparada uma série de soluções-teste intermediárias de razão de diluição de 1,2. Foram utilizadas concentrações de 4,82; 5,78; 6,94; 8,33 e 10,0 mg.Kg<sup>-1</sup>. Além disso, foram realizados dois controles, sendo um controle só com água e mais um controle com DMSO na concentração mais alta utilizada nos testes. Para cada diluição e controle foram adicionados 10 organismos distribuídos em 10 réplicas.

Diariamente as neonatas produzidas por cada fêmea foram contadas e observadas (cinco neonatas observadas/concentração) com auxílio de um microscópio óptico. As malformações, desenvolvimento incompleto e mortalidade das neonatas foram registradas.

#### **4.2.2.3.1. Preparo das soluções-teste**

Após o sétimo dia de marcação do sedimento, as amostras foram colocadas nas câmaras-teste e logo após, a água de diluição foi adicionada na proporção de 1:4, respectivamente (5g/20mL). O preparo ocorreu 24 horas antes de se iniciar o experimento para possibilitar a sedimentação das amostras e permitir que o equilíbrio água/sedimento se estabeleça.

As características físico-químicas (pH, oxigênio dissolvido e condutividade) da água de diluição foram medidas no início e no final de cada manutenção do teste.

#### **4.2.2.3.2. Montagem do teste**

Após as 24 horas do preparo das soluções-teste, foram adicionados 1 organismo para cada béquer (10 réplicas), sendo transferidos de maneira aleatória para os béqueres com auxílio de uma pipeta de Pasteur.

O alimento, alga e ração composta, foi fornecido diariamente e suspenso por 2 dias até a normalização das condições, no caso de acúmulo no sedimento ou quando a saturação de oxigênio dissolvido na água foi inferior a 40%.

#### 4.2.2.3.3. Condições para realização dos testes

As condições para realização do teste são as mesmas descritas para as condições de cultivo das culturas de *C. dubia*, no item 4.1.1.4.

#### 4.2.2.3.4. Manutenção dos testes

A manutenção dos testes foi feita a cada dois dias, onde 2/3 da água de diluição foi substituída e seus parâmetros físico-químicos registrados. Além disso, o alimento foi fornecido diariamente, e os jovens contados e removidos. A Tabela III apresenta um resumo da metodologia do teste.

As fichas dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan em sedimentos para *Ceriodaphnia dubia* encontram-se no Anexo 3.

**Tabela III** – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan em sedimento para *Ceriodaphnia dubia*

| <b>Parâmetros</b>             | <b>Condições</b>   |
|-------------------------------|--|
| Tipo de teste                 | Semi-estático  |
| Diluições                     | Controle e 5 concentrações                                 |
| Substância                    | Triclosan  |
| Temperatura                   | 25 ± 1°C   |
| Fotoperíodo                   | 16 h luz   |
| Idade do organismo            | 6 a 24 h   |
| Câmara teste                  | Béquers de 30 mL   |
| Volume de água                | 20 mL  |
| Renovação de água             | 2/3 da água a cada dois dias                               |
| Nº de organismos/câmara       | 1  |
| Nº de réplicas por tratamento | 10   |
| Alimentação                   | Algas (1x10 <sup>5</sup> céls/mL) e ração                  |
| Substrato                     | 5g de sedimento  |
| Água de diluição              | Água de cultivo  |
| Duração do teste              | 7 dias, após 60% do controle apresentar a terceira postura |
| Parâmetros analisados         | Sobrevivência, Reprodução e Malformações                   |

#### 4.2.2.4. Avaliação da toxicidade em água para *Ceriodaphnia dubia*

A avaliação da toxicidade do Triclosan para *Ceriodaphnia dubia* baseou-se na metodologia da ABNT (2005).

#### 4.2.2.4.1. Teste definitivo

Os ensaios de ecotoxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* foram realizados em béqueres de 30 mL com volume final de 20 mL das soluções testadas. Foram preparadas 5 concentrações, utilizando-se o fator de diluição 2, e mais um controle com 10 réplicas cada. As concentrações utilizadas foram 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08 e 0,16 mg.L<sup>-1</sup>. Para cada diluição e controle foram adicionados 10 organismos distribuídos em 10 réplicas.

A transferência dos organismos foi feita de forma aleatória, e o teste mantido a 25°C(±2) por um período de 7 dias. O teste foi prorrogado para 8 dias caso 60% das fêmeas não tenham chegado à terceira postura ou, ao final de 7 dias, o controle não tenha chegado à uma média de 15 neonatas por réplica. O fotoperíodo foi de 16 horas-luz com intensidade luminosa de 500 a 1000 lux, sem aeração, e com alimentação diária. Os béqueres foram cobertos por plástico, para evitar possíveis interferências de outras substâncias. O teste é invalidado caso haja 20% ou mais de mortalidade no controle.

A manutenção do teste foi feita a cada 2 dias, quando todos os procedimentos de diluição, montagem e alimentação foram repetidos. A cada manutenção, os jovens foram contados, registrados e depois descartados, e os organismos testados transferidos para os novos meios preparados. Foram analisados e registrados os parâmetros físico-químicos (pH, O.D. e condutividade) iniciais e finais de todas as concentrações a cada manutenção do teste. A Tabela IV apresenta um resumo da metodologia do teste.

Diariamente as neonatas produzidas por cada fêmea foram contadas e observadas (cinco neonatas observadas/concentração) com auxílio de um microscópio óptico. As malformações, desenvolvimento incompleto e mortalidade das neonatas foram registradas.

Com o objetivo de se avaliar uma possível interferência na toxicidade causada pela degradação do Triclosan por bactérias presentes no alimento composto da *C.*

*dubia* foram realizados dois ensaios onde os organismos foram alimentados com dieta à base de algas *Pseudokirchneriella subcapitata* ( $1 \times 10^5$  céls.mL<sup>-1</sup>) e alimento composto e dois ensaios onde o alimento fornecido foi somente algas. As fichas dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan na água para *Ceriodaphnia dubia* encontram-se nos Anexos 4 e 5.

**Tabela IV** – Condições para realização dos ensaios de ecotoxicidade crônica do Triclosan em água para *Ceriodaphnia dubia*

| <b>Parâmetros</b>             | <b>Condições</b>                                    |
|-------------------------------|---|
| Tipo de teste                 | Semi-estático                                       |
| Diluições                     | Controle e 5 concentrações                          |
| Substância-teste              | Triclosan   |
| Temperatura                   | 25 ± 1°C  |
| Fotoperíodo                   | 16 h luz  |
| Idade do organismo            | 6 a 24 h  |
| Câmara-teste                  | Béquers de 30 mL                                    |
| Volume de solução-teste       | 20 mL   |
| Nº de organismos/câmara-teste | 1   |
| Nº de réplicas por tratamento | 10  |
| Alimentação                   | Diária - Algas ( $1 \times 10^5$ céls/mL) c/s ração |
| Água de diluição              | Água de cultivo                                     |
| Duração do teste              | 7 a 8 dias  |
| Parâmetros analisados         | Sobrevivência, Reprodução e Malformações            |

### 4.3. Avaliação dos Resultados

As análises estatísticas para avaliação dos efeitos crônicos foram realizadas a partir do software TOXSTAT 3.4 (WEST & GULLEY, 1994) para determinação da CENO, que significa a maior concentração de Triclosan onde não se observam efeitos estatisticamente significativos na sobrevivência e reprodução dos organismos testados, e também determinação da CEO, que se refere a menor concentração da amostra onde efeitos deletérios estatisticamente significativos são observados na sobrevivência e reprodução, durante o período do teste.

As primeiras 48 horas dos ensaios de ecotoxicidade crônica foram observadas para avaliação de efeitos agudos. As análises estatísticas seguiram os procedimentos adotados pela EPA (2002b), (Figura 5).

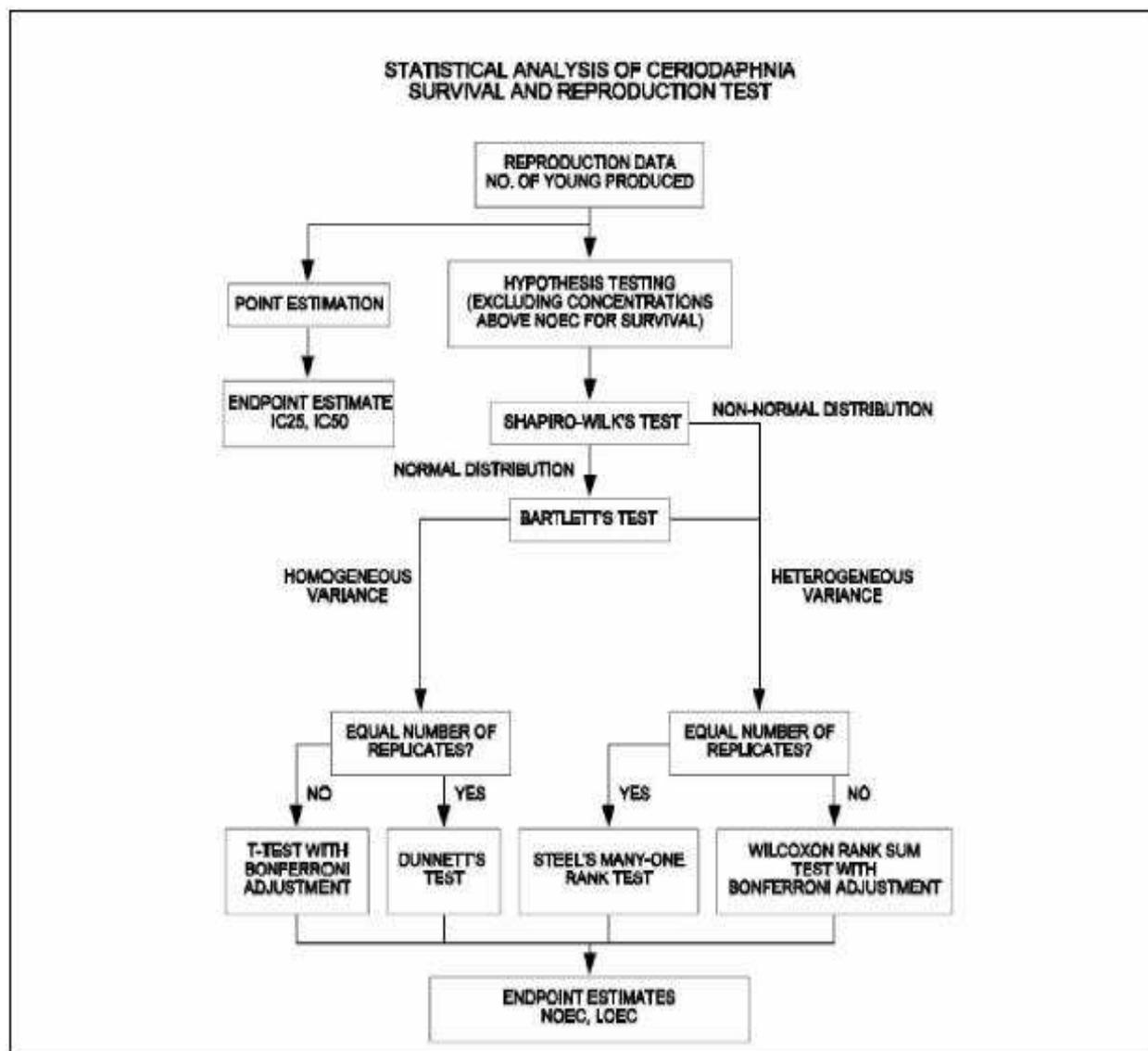


Figura 5 – Análise estatística (EPA, 2002).

Os efeitos agudos nos organismos foram determinados através da CE(I)50 (Concentração efetiva inicial de efeito a 50% dos organismos), utilizando-se o método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977). O teste é considerado válido se o controle não exceder 10% de letalidade nos testes de sensibilidade e definitivos com *C. dubia*, e 20 % nos testes de sensibilidade e definitivos com *C. xanthus*.

A Tabela V apresenta o sumário da metodologia estabelecida para avaliação da toxicidade de Triclosan em água e sedimento.

**Tabela V** – Sumário dos testes realizados.

| Organismo                 | Matriz        | Efeito  | Nº de Testes | Solução-estoque matriz | Solvente | Tempo de Equilíbrio | Concentrações utilizadas                                    |
|---------------------------|---------------|---------|--------------|------------------------|----------|---------------------|---|
|                           | Água c/ ração | Crônico | 2            | 1 g.L <sup>-1</sup>    | DMSO     | -                   | 0,005 - 0,01 - 0,02 - 0,04 - 0,08 - 0,16 mg.L <sup>-1</sup> |
| <i>Ceriodaphnia dubia</i> | Água s/ ração | Crônico | 2            | 1 g.L <sup>-1</sup>    | DMSO     | -                   | 0,005 - 0,01 - 0,02 - 0,04 - 0,08 - 0,16 mg.L <sup>-1</sup> |
|                           | Sedimentos    | Crônico | 3            | 40 g.L <sup>-1</sup>   | DMSO     | 7 dias              | 4,82 - 5,78 - 6,94 - 8,33 - 10,0 mg.Kg <sup>-1</sup>        |
| <i>Chironomus xanthus</i> | Sedimentos    | Agudo   | 3            | 40 g.L <sup>-1</sup>   | DMSO     | 7 dias              | 24,11 - 28,93 - 34,72 - 41,66 - 50,0 mg.Kg <sup>-1</sup>    |

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Avaliação da toxicidade do Triclosan no sedimento

#### 5.1.1. Caracterização do sedimento

##### 5.1.1.1. Granulometria

Os resultados da análise granulométrica do sedimento da Represa do Broa, evidenciaram uma composição de 10% de areia grossa, 42% de areia média, 37% de areia fina e 11% de areia muito fina. Estas características estão de acordo com o padrão recomendado para testes com *Chironomus* pela Norma da OECD G 218 (2004). Os resultados obtidos pela análise de distribuição granulométrica encontram-se descritos na Tabela VI.

**Tabela VI** – Análise de distribuição granulométrica do sedimento da Represa do Broa, São Carlos, São Paulo.

| Granulometria (mm) | Massa (g)     | Massa corrigida (g) | Porcentagem (%) | Nome do material |
|--------------------|---------------|---------------------|-----------------|------------------|
| Massa inicial      | 100           | -                   | -               | -                |
| Maior que 2,0      | -             | -                   | -               | -                |
| 2,0 a 1,0          | -             | -                   | -               | -                |
| 1,0 a 0,5          | 10,218        | 10,371              | 10              | Areia grossa     |
| 0,5 a 0,25         | 41,267        | 41,886              | 42              | Areia média      |
| 0,25 a 0,125       | 36,347        | 36,892              | 37              | Areia fina       |
| 0,125 a 0,063      | 10,683        | 10,843              | 11              | Areia muito fina |
| Menor que 0,063    | 0,944         | -                   | -               | Silte            |
| <b>Totais</b>      | <b>99,459</b> | <b>99,992</b>       | <b>100</b>      | -                |

##### 5.1.1.2. Metais

Os resultados da determinação das concentrações de metais do sedimento da Represa do Broa, realizadas pelo Laboratório de Química Ambiental do IPEN, encontram-se descritos na Tabela VII. Os resultados representam a média de três

determinações independentes com seu desvio padrão. Os resultados obtidos encontram-se abaixo dos níveis de referência geológico global (TUREKIAN & WEDEPOHL, 1961), exceto para valores de V e Co, que se encontram pouco acima do nível e, além disso, encontram-se abaixo dos valores de TEL (Threshold Effect Level – nível no qual não ocorre efeito adverso à comunidade biológica) (ENVIRONMENT CANADA, 2002).

**Tabela VII – Teor de metais no sedimento da Represa do Broa, São Carlos, São Paulo.**

| Análise Química |                      |  |                   |             |                      |  |                   |
|-----------------|----------------------|--|-------------------|-------------|----------------------|--|-------------------|
| Elem./Comp.     | $\mu\text{g.g}^{-1}$ | NsRGG <sup>*</sup><br>( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) | TEL <sup>**</sup> | Elem./Comp. | $\mu\text{g.g}^{-1}$ | NsRGG <sup>*</sup><br>( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) | TEL <sup>**</sup> |
| Mg              | 15,1 ± 0,2           | 15000  |                   | Fe          | 163 ± 1              | 47200  |                   |
| Al              | 1410 ± 37            | 80000  |                   | Co          | 0,29 ± 0,01          | 19   |                   |
| P               | < 0,33               | 700  |                   | Ni          | 0,6 ± 0,09           | 68   | 18                |
| K               | 33,5 ± 1,9           | 26600  |                   | Cu          | 1,15 ± 0,03          | 45   | 35,7              |
| Ca              | 89,7 ± 2,1           | 22100  |                   | Zn          | < 0,38               | 95   | 123               |
| V               | 1,47 ± 0,02          | 130  |                   | Cd          | 0,031 ± 0,01         | 0,3  | 0,6               |
| Cr              | 0,15 ± 0,03          | 90   | 37,3              | Pb          | 0,87 ± 0,17          | 20   | 35                |
| Mn              | 16 ± 0,4             | 850  | -                 | Ba          | 11,9 ± 0,1           | 580  |                   |
| As              | < 0,15               | 13   | 5,9               | Hg          | < 0,33               | 0,4  | 0,17              |

\* Níveis de referência geológico global - Turekian & Wedepohl (1961); \*\*TEL - (ENVIRONMENT CANADA, 2002)

## 5.2. Ensaio de ecotoxicidade aguda no sedimento com *Chironomus xanthus*.

O valor médio de CE(I)50;96h obtido nos ensaios de ecotoxicidade aguda com *C. xanthus* utilizando-se o método Trimmed Spearman-Kärber foi de 45,26 mg.Kg<sup>-1</sup>, com desvio padrão de 4,29 mg.Kg<sup>-1</sup> e coeficiente de variação de 9%. Os resultados encontram-se descritos na Tabela VIII.

Os valores de pH determinados nos experimentos (Anexo 2) encontram-se próximo ao pH neutro (7), o que indica que este parâmetro não interferiu na toxicidade do produto.

**Tabela VIII** – Toxicidade aguda (CE(I)50;96h) de Triclosan para *Chironomus xanthus* com sedimento enriquecido.

| Concentrações (mg.Kg <sup>-1</sup> ) | Teste 1       | Teste 2       | Teste 3       |
|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                      |               |               |               |
| Controle                             | 2             | 1             | 1             |
| Controle + DMSO                      | 0             | 1             | 0             |
| 24,11                                | 2             | 2             | 2             |
| 28,93                                | 1             | 0             | 1             |
| 34,72                                | 3             | 2             | 2             |
| 41,66                                | 5             | 3             | 4             |
| 50,00                                | 7             | 5             | 7             |
| CE50                                 | 41,66         | 50,00         | 44,11         |
| Intervalo de confiança               | 35,09 - 49,47 | 50,00 - 50,00 | 37,11 - 52,42 |
| Média                                |               | 45,26         |               |
| Desvio Padrão                        |               | 4,29          |               |
| Coeficiente de variação              |               | 9%            |               |

### 5.2.1. Sensibilidade de *Chironomus xanthus*

Mensalmente foram realizados testes de sensibilidade para se verificar se os organismos se encontravam em condições de serem utilizados nos ensaios de ecotoxicidade. Os lotes utilizados sempre se encontraram dentro da faixa de sensibilidade estabelecida para o Laboratório de Ecotoxicologia do IPEN, que varia entre 4,51 e 10,59 g.L<sup>-1</sup> de NaCl. O valor médio obtido para CE(I)50;96h foi de 7,556 g.L<sup>-1</sup> de NaCl.

A Figura 6 mostra os resultados mais recentes da carta-controle dos testes de sensibilidade realizados.

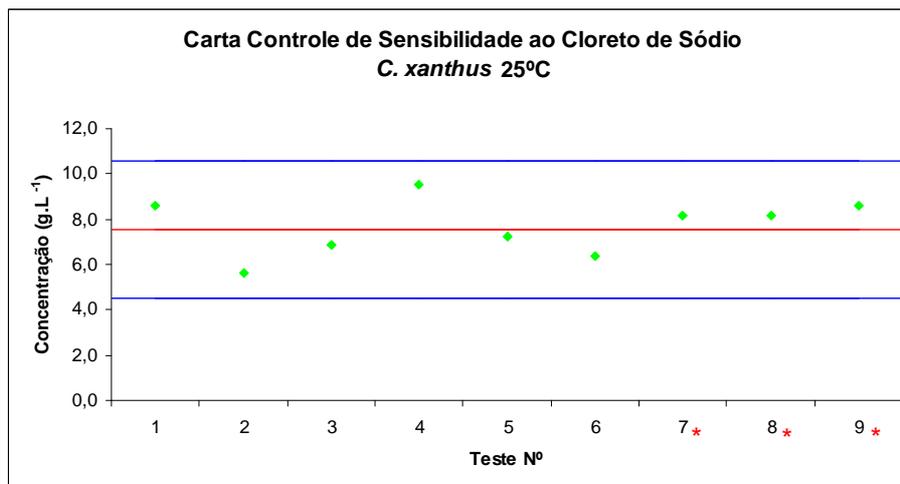


Figura 6 – Carta-controle de NaCl (CE(I)50;96h) de *Chironomus xanthus*.  
\* Períodos nos quais foram realizados os ensaios.

### 5.3. Avaliação da toxicidade crônica no sedimento com *C. dubia*

Aproximadamente a cada 20 dias foram realizadas coletas de água para manutenção dos cultivos e realização dos ensaios de ecotoxicidade com *Ceriodaphnia dubia*. Os resultados dos testes de viabilidade dos lotes de água para cultivo e realização de ensaios de toxicidade crônica no sedimento com *C. dubia* apresentaram-se dentro dos padrões de aceitabilidade para realização dos experimentos.

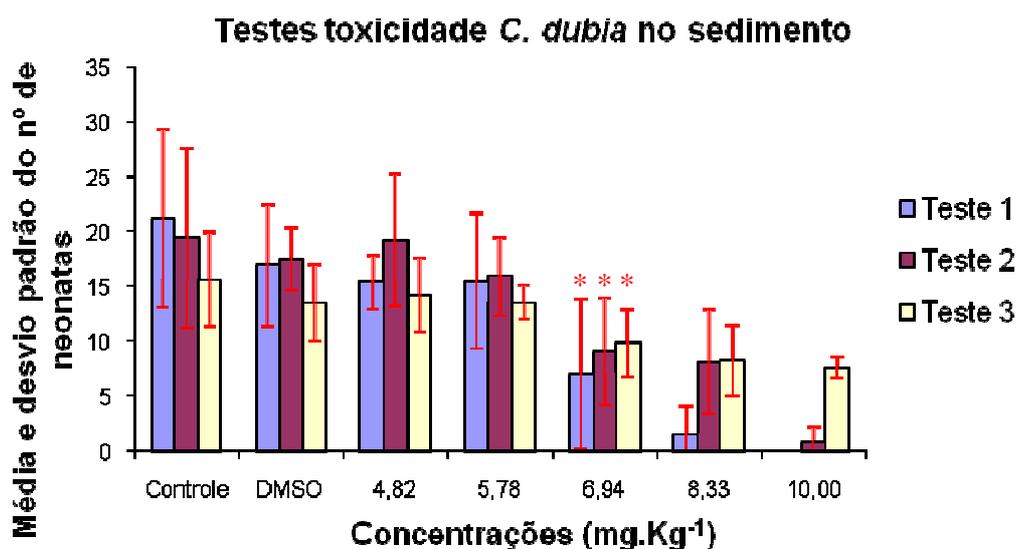
Os resultados de CENO e CEO para os 3 ensaios realizados foram de 5,78 e 6,94 mg.Kg<sup>-1</sup> de Triclosan, respectivamente (Tabela IX e Figura 7). Os dados obtidos falharam na homogeneidade de variância (“Bartlett’s test”) e foram submetidos à análise pelo “Steel’s many-one rank test” em todos os ensaios.

Não foram evidenciados efeitos tanto de malformação quanto de mortalidade nas neonatas observadas nos três ensaios de ecotoxicidade crônica.

**Tabela IX** – Reprodução de *Ceriodaphnia dubia* (nº médio de neonatas/ concentração) em ensaios de toxicidade crônica do Triclosan com “spiked sediment”.

| Concentrações<br>(mg.Kg <sup>-1</sup> ) | Teste 1 |       | Teste 2 |       | Teste 3 |       |
|---|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
|   | Média   | DP    | Média   | DP    | Média   | DP    |
| Controle                                | 21,2    | 8,121 | 19,4    | 8,222 | 15,6    | 4,300 |
| DMSO                                    | 16,9    | 5,507 | 17,5    | 2,799 | 13,5    | 3,504 |
| 4,82                                    | 15,4    | 2,413 | 19,2    | 6,052 | 14,2    | 3,425 |
| 5,78                                    | 15,5    | 6,205 | 15,9    | 3,510 | 13,5    | 1,581 |
| 6,94*                                   | 7,0     | 6,799 | 9,1     | 4,841 | 9,8     | 3,120 |
| 8,33                                    | 1,5     | 2,593 | 8,1     | 4,818 | 8,2     | 3,293 |
| 10,00                                   | 0       | 0     | 0,8     | 1,398 | 7,6     | 0,966 |

DP = Desvio padrão; \* CEO



**Figura 7** - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de *C. dubia* em testes de toxicidade crônica com “spiked-sediment”

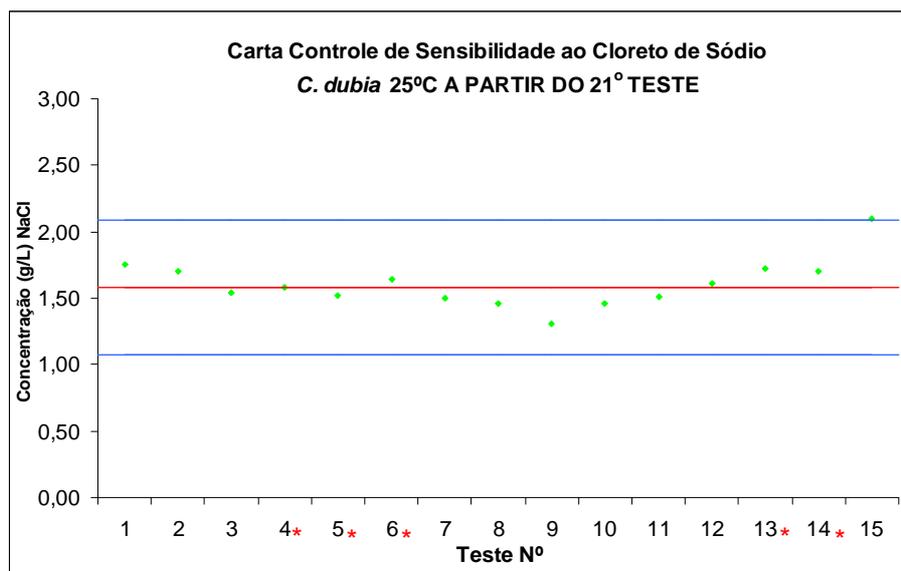
\* Concentração de Efeito Observado.

### 5.3.1. Sensibilidade de *Ceriodaphnia dubia*

Mensalmente foram realizados testes de sensibilidade para se verificar se os organismos se encontravam em condições de serem utilizados nos ensaios de ecotoxicidade. Os lotes utilizados sempre se encontraram dentro da faixa estabelecida

para o Laboratório de Ecotoxicologia do IPEN, que varia entre 1,076 e 2,084 g.L<sup>-1</sup> de NaCl. O valor médio obtido para CE(I)50;48H foi de 1,58 g.L<sup>-1</sup> NaCl.

A Figura 8 mostra os resultados mais recentes da carta-controle dos testes de sensibilidade realizados.



**Figura 8** – Carta-controle de NaCl (CE(I)50;48h) de *Ceriodaphnia dubia*.  
\* Períodos nos quais foram realizados os ensaios.

#### 5.4. Avaliação da toxicidade do Triclosan em água para *Ceriodaphnia dubia*

Com o objetivo de se avaliar uma possível interferência na toxicidade causada pela degradação do Triclosan por bactérias presentes no alimento composto da *C. dubia* foram realizados dois ensaios onde os organismos foram alimentados com dieta à base de algas *Pseudokirchneriella subcapitata* ( $1 \times 10^5$  céls.mL<sup>-1</sup>) e alimento composto e dois ensaios onde o alimento fornecido foi somente algas.

Os resultados dos testes de viabilidade dos lotes de água para cultivo e realização de ensaios de toxicidade crônica em água com *C. dubia* apresentaram-se dentro dos padrões para realização dos experimentos.

#### 5.4.1. Avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia* com ração

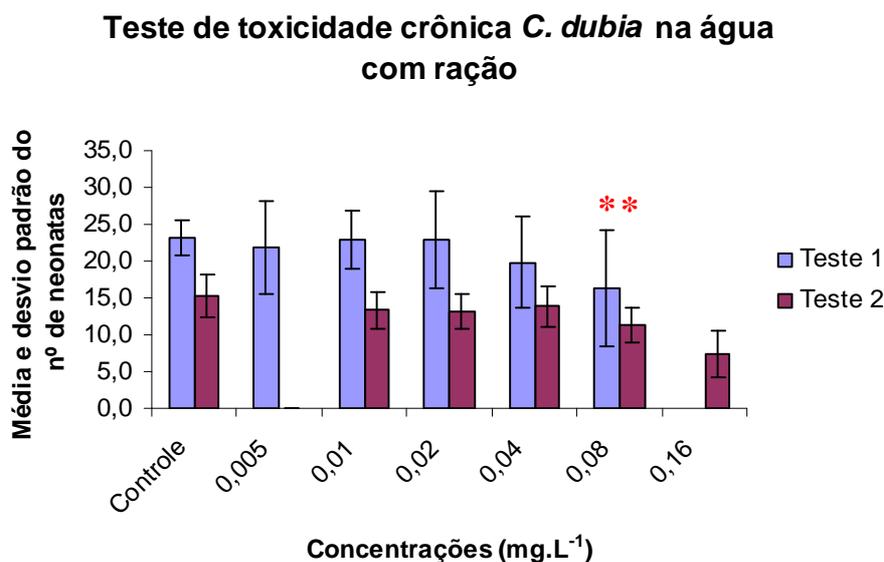
Os valores obtidos de CENO e CEO para os ensaios de ecotoxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia* alimentadas com alga e alimento composto foram de 0,04 e 0,08 mg.L<sup>-1</sup> de Triclosan, respectivamente. Os dados obtidos apresentaram homogeneidade de variância (“Bartlett’s test”) e foram submetidos à análise pelo “T-test with Bonferroni adjustment” nos dois ensaios realizados.

Os resultados dos testes podem ser observados na Tabela X e Figura 9. A carta-controle de sensibilidade dos organismos utilizados nos ensaios de ecotoxicidade com sedimento encontra-se na Figura 8. Não foram evidenciados efeitos tanto de malformação quanto de mortalidade nas neonatas observadas nos dois ensaios de ecotoxicidade crônica.

**Tabela X** – Reprodução de *Ceriodaphnia dubia* (nº médio de neonatas/concentração) em ensaios de toxicidade crônica com Triclosan com dieta à base de algas e alimento composto.

| Concentrações<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Teste 1 |       |        | Teste 2 |       |        |
|--|---------|-------|--------|---------|-------|--------|
|  | Média   | DP    | CV (%) | Média   | DP    | CV (%) |
| <b>Controle</b>                        | 23,2    | 2,348 | 10,12  | 15,2    | 2,863 | 18,81  |
| <b>0,005</b>                           | 21,9    | 6,332 | 28,92  | -       | -     | -      |
| <b>0,01</b>                            | 22,9    | 3,843 | 16,78  | 13,3    | 2,406 | 18,09  |
| <b>0,02</b>                            | 22,9    | 6,489 | 28,35  | 13,2    | 2,348 | 17,78  |
| <b>0,04</b>                            | 19,8    | 6,125 | 30,93  | 13,9    | 2,807 | 20,19  |
| <b>0,08*</b>                           | 16,3    | 7,959 | 48,83  | 11,3    | 2,312 | 20,46  |
| <b>0,16</b>                            | -       | -     | -      | 7,4     | 3,062 | 41,38  |

- não realizado; **DP** = Desvio padrão; **CV** = Coeficiente de variação; \* CEO – Concentração de efeito observado



**Figura 9** - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de *C. dubia* nos testes de toxicidade crônica do Triclosan na água com dieta a base de algas e alimento composto.

\* Concentração de Efeito Observado.

#### 5.4.2. Avaliação da toxicidade crônica para *Ceriodaphnia dubia* sem ração

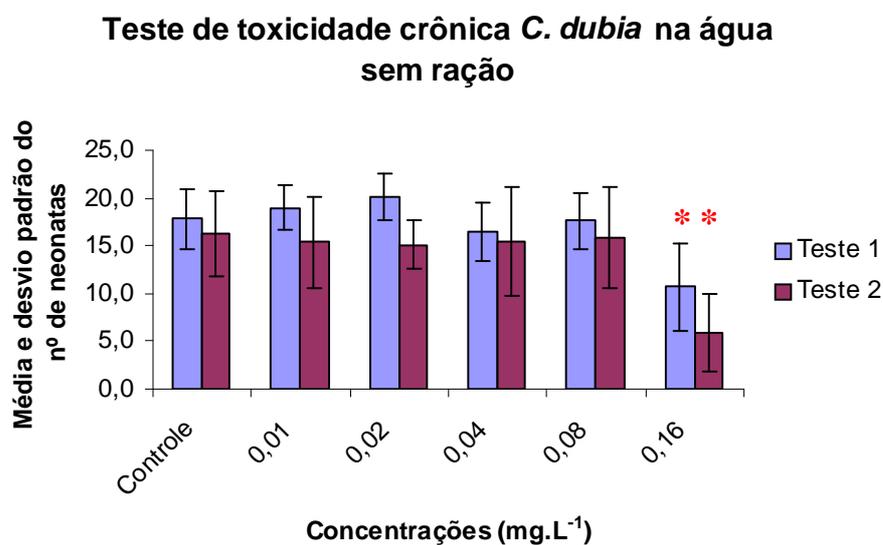
Os resultados obtidos de CENO e CEO para os ensaios de ecotoxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* na água com dieta à base de algas apresentaram os valores de 0,08 e 0,16 mg.L<sup>-1</sup> de Triclosan, respectivamente. Os dados obtidos apresentaram homogeneidade de variância (“Bartlett’s test”) e foram submetidos à análise pelo “Dunnett’s test” no primeiro ensaio e pelo “T-test with Bonferroni adjustment” no segundo ensaio. Os resultados dos testes podem ser observados na Tabela XI e Figura 10.

Os organismos expostos nos ensaios de ecotoxicidade com dieta a base de algas e ração apresentaram-se mais sensíveis ao Triclosan. Assim como nos ensaios de ecotoxicidade crônica com dieta a base de algas e ração, também não foram evidenciados efeitos tanto de malformação quanto de mortalidade nas neonatas observadas nos dois testes realizados.

**Tabela XI** – Reprodução de *Ceriodaphnia dubia* (nº médio de neonatas/concentração) em ensaios de toxicidade crônica com Triclosan com dieta à base de algas.

| Concentrações<br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | Teste 1 |       |        | Teste 2 |       |        |
|--|---------|-------|--------|---------|-------|--------|
|  | Média   | DP    | CV (%) | Média   | DP    | CV (%) |
| Controle                               | 17,8    | 3,084 | 17,33  | 16,2    | 4,467 | 27,58  |
| 0,01                                   | 19,0    | 2,261 | 11,90  | 15,4    | 4,742 | 30,79  |
| 0,02                                   | 20,1    | 2,378 | 11,83  | 15,1    | 2,522 | 16,69  |
| 0,04                                   | 16,4    | 3,026 | 18,45  | 15,4    | 5,703 | 36,93  |
| 0,08                                   | 17,6    | 2,875 | 16,34  | 15,8    | 5,245 | 33,20  |
| 0,16*                                  | 10,7    | 4,596 | 42,95  | 5,9     | 4,137 | 70,24  |

- não realizado; **DP** = Desvio padrão; **CV** = Coeficiente de variação; \* CEO – Concentração de efeito observado



**Figura 10** - Média e desvio padrão da reprodução de neonatas/fêmea de *C. dubia* nos testes de toxicidade crônica do Triclosan na água com dieta a base de algas.

\* Concentração de Efeito Observado.

## 6. DISCUSSÃO

Durante muito tempo os efeitos causados pela contaminação ambiental por fármacos e produtos de cuidados pessoais (“PPCP – *Pharmaceutical and Personal Care Products*”) não foram levados em consideração em programas de monitoramento ambiental, provavelmente devido às baixas concentrações destes compostos no ambiente. Além disso, estes compostos não eram detectados pelos métodos analíticos disponíveis há poucos anos atrás e, isso só foi possível com o desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis.

O fato é que mesmo em baixas concentrações ( $\text{ng.L}^{-1}$  a  $\text{mg.L}^{-1}$ ), efeitos adversos à biota são observados, como observado na Tabela I.

A contínua e demasiada descarga de PPCPs no ambiente impede a capacidade de auto-depuração de qualquer ambiente aquático. No caso dos bactericidas, as baixas concentrações e contínuas descargas no ambiente podem promover resistência bacteriana, devido às bactérias freqüentemente alterarem seu material genético (BILA & DEZOTTI, 2003).

A problemática ambiental causada pelos fármacos, juntamente com a possibilidade de possíveis efeitos sinérgicos entre PPCPs e a proliferação do uso de compostos orgânicos sintéticos, desencadeou uma grande preocupação sobre os seus efeitos tóxicos à biota aquática.

Atualmente, o monitoramento de produtos farmacêuticos vem ganhando grande interesse por parte da comunidade científica, principalmente pelo fato de muitas dessas substâncias serem encontradas em águas superficiais, regiões costeiras, efluentes industriais, efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e inclusive na água tratada proveniente de Estações de Tratamento de Água (ETAs).

Uma investigação da AP (*Associated Press*) divulgada em 2008 nos principais jornais do mundo, aponta a presença de compostos farmacêuticos nas águas de abastecimento de pelo menos 41 milhões de americanos em 24 grandes centros

metropolitanos dos EUA. No mesmo ano, KUSTER e colaboradores detectaram em águas de abastecimento público na Espanha. No Brasil, em 2006, GHISELLI constatou a presença de diversos compostos derivados de produtos farmacêuticos nas águas de abastecimento público da região de Campinas.

Os PPCPs, considerados como micropoluentes, ou seja, compostos que mesmo presentes em concentrações muito baixas, são capazes de acarretar impactos na estrutura e dinâmica das comunidades aquáticas, assim como à saúde humana, principalmente pelos efeitos a longo prazo que, até o momento, são praticamente desconhecidos. Além disso, são persistentes, pois foram desenvolvidos de modo a manter as propriedades químicas o tempo suficiente para servirem a um propósito terapêutico, o que implica em um tempo maior para a degradação destes compostos no ambiente (MULROY, 2001).

### **6.1. Avaliação da toxicidade do Triclosan em sedimentos**

Devido às características de persistência dos PPCPs, muitos permanecem ativos durante um longo período, sem que ocorra degradação, o que aumenta a tendência destes compostos orgânicos de decantar e se acumular nos sedimentos, que passam a funcionar como repositório destes contaminantes e fonte de contaminação à cadeia trófica.

Apesar da importância da qualidade dos sedimentos para a saúde do ambiente aquático, existe grande carência de informações e estudos que considerem o potencial tóxico dos PPCPs nos sedimentos. Os ensaios de toxicidade fornecem informações rápidas do potencial tóxico de contaminantes aos organismos bentônicos, possibilitando tomadas de decisões em curto prazo (INGERSOLL, 1995).

Para se determinar a toxicidade de substâncias específicas é necessário utilizar sedimentos onde a substância testada esteja livre de efeitos causados por outros estressores (STEMMER *et al.*, 1990; BURTON, 1991; LUOMA & HO, 1993 apud SIMPSON *et al.*, 2004).

O sedimento de referencia escolhido para realização dos ensaios, coletado próximo a Represa do Broa, SP, vem sendo utilizado em cultivos de *Chironomus xanthus* e em trabalhos de pesquisa no Laboratório de Ecotoxicologia do IPEN, na Universidade de São Carlos (UFSCAR) e na Escola de Engenharia de São Carlos (USP).

As análises químicas das amostras de sedimento utilizadas nos ensaios apresentaram valores inferiores aos níveis de referência geológico global (“background geoquímico”) propostos por TUREKIAN & WEDEPOHL (1961), aos valores de TEL estabelecidos pela legislação canadense (ENVIRONMENT CANADA, 2002) e adotados pela CETESB (2009), além dos valores citados na Resolução CONAMA 344/04, o que indica que esses sedimentos encontram-se dentro dos padrões considerados não tóxicos. Vale ressaltar que não existe nenhuma norma que estabeleça os limites padrões que leve um sedimento ser considerado como contaminado ou não, existem apenas alguns guias de valores orientadores da qualidade do sedimentos.

#### **6.1.1. Avaliação da toxicidade utilizando sedimento enriquecido (“*Spiked sediment*”)**

A técnica utilizada, denominada “*spiked sediment*”, consiste na adição de uma ou mais substâncias químicas em amostras de sedimento, isentas de contaminação, para avaliação dos efeitos do composto testado sobre os organismos-teste.

Na maioria dos trabalhos publicados, a técnica de marcação dos sedimentos (“*spiked sediment*”) é utilizada para avaliação de limites e quantificação de metais em sedimentos. Existem poucos guias orientativos e trabalhos publicados na literatura utilizando esta técnica para avaliação de efeitos à biota aquática.

Em muitas destas publicações as metodologias para enriquecer o sedimento não estão descritas ou os procedimentos não se encontram suficientemente claros de modo a garantir a reprodutibilidade do método. Esta dificuldade já constatada por SIMPSON et al. (2004), ao estudar o tempo de equilíbrio e a biodisponibilidade de metais (Cd, Cu, Ni e Zn) em ensaios de ecotoxicidade com sedimentos estuarinos enriquecidos

(spiked), ainda hoje se mantém. No presente trabalho teve-se o cuidado de descrever com detalhe os procedimentos de modo a garantir sua reprodutibilidade em trabalhos futuros.

A marcação do sedimento no presente estudo foi realizada através da técnica denominada “*slurry spiking*” (“*by hand mixing*”), que segundo NORTHCOTT & JONES (2000), é a técnica mais adequada para este tipo de trabalho, pois o processo de mistura é suficiente para remover o solvente por evaporação e propiciar homogeneidade suficiente à amostra, além de ser uma técnica mais acessível. Outras técnicas como “*shell coating/rolling*”, que além de homogeneizar a amostra possui melhor eficiência na remoção do solvente e “*roller mixing*”, que garante homogeneização sem a necessidade de aplicação de força física, são muito caras e recomendadas para quantidades grandes de sedimento (EPA, 2001).

#### **6.1.2. Avaliação da toxicidade em sedimentos para *Chironomus xanthus***

Larvas de Chironomidae podem ser encontradas em diversos tipos de ambientes aquáticos, como ambientes lênticos, lóticos, águas frias ou quentes, ricas ou pobres em oxigênio (LINDEGAARD, 1995 apud ALMEIDA, 2007). Constituem um dos principais componentes da fauna bentônica de lagos e reservatórios (STRIXINO, 1980), além de participarem ativamente do metabolismo intermediário dos lagos, pois o lodo do fundo passa através de seu trato digestivo (STRIXINO, 1973). A ingestão de partículas é uma importante rota de exposição aos contaminantes presentes nos sedimentos. Por estas características, estes organismos são considerados bioindicadores e utilizados em ensaios de ecotoxicidade do sedimento (ALMEIDA, 2007; MUNAWAR, 1999; SILVA, 2008).

Em 2005, SILVA realizou no Brasil o único trabalho com *Chironomus xanthus* utilizando a técnica de “*spiked sediment*” reportado na literatura, avaliando a toxicidade do agrotóxico Permetrina nos sedimentos e obtendo resultados consistentes.

Os ensaios de ecotoxicidade aguda realizados com *C. xanthus* utilizando sedimentos enriquecidos com Triclosan apresentaram como resultado um valor médio

de CE(I)50;96h de 45,26 mg.Kg<sup>-1</sup>. Os resultados dos 3 testes com sedimento marcado apresentaram baixo coeficiente de variação (9%). Os parâmetros físico-químicos da água analisados apresentaram-se dentro dos limites estabelecidos como adequados na literatura para esta espécie (SILVA, 2005).

A consulta na literatura existente não evidenciou informações quanto a contaminação de Triclosan em sedimentos de ambientes dulcícolas como também em ensaios ecotoxicidade com sedimento enriquecido. Para ambientes tropicais há uma grande lacuna neste domínio, o que torna necessário esforços no sentido de se conhecer os impactos causados por PPCPs.

Embora os resultados obtidos apresentem valores acima dos encontrados no ambiente (ng.Kg<sup>-1</sup> a µg.Kg<sup>-1</sup>) estes efeitos devem ser considerados, já que podem comprometer a alimentação e a fuga de predadores. Além disso, algumas espécies de bactérias, protozoários, microalgas e fungos não conseguem depurar estes compostos orgânicos sintéticos e podem bioacumular essas substâncias e posteriormente servir de base de alimentação dos organismos mais desenvolvidos, expondo-os a concentrações até milhares de vezes mais altas através de um processo denominado biomagnificação.

### **6.1.3. Avaliação da toxicidade em sedimentos para *Ceriodaphnia dubia***

A espécie *Ceriodaphnia dubia* vem sendo utilizada e recomendada como organismo-teste para testes com sedimento por diversos autores (BURTON *et al.*, 1992; BURTON & MACPHERSON, 1995; MUNAWAR, 1999; PORTELA, 2002; Cal/EPA 2003).

De acordo com MUNAWAR *et al.* (1999), embora *Ceriodaphnia dubia* não seja um organismo bentônico, possui tendência em habitar a região de interface sedimento-água. Além disso, alimenta-se na superfície do sedimento e com isso aumenta a possibilidade de contato dos organismos com as partículas tóxicas presentes no sedimento, o que torna este organismo um importante indicador da contaminação dos sedimentos.

Os ensaios de ecotoxicidade com sedimento enriquecido com Triclosan com *C. dubia* apresentaram valores de CENO e CEO, para os 3 ensaios realizados, de 5,78 e 6,94 mg.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Como o Triclosan é um composto hidrofóbico, provavelmente se adsorveu à matéria orgânica presente no sedimento, o que tornou apenas uma pequena fração do composto biodisponível para coluna d'água, onde a toxicidade nos testes somente com água foi observada na faixa de 0,08 a 0,16 mg.L<sup>-1</sup>.

No primeiro ensaio realizado, a concentração de 10 mg.Kg<sup>-1</sup> de Triclosan nos sedimentos apresentou efeito agudo, levando a letalidade dos organismos nas primeiras 48 horas do teste. No segundo teste houve diminuição na mortalidade nas primeiras 48 horas, assim como no terceiro teste. É possível que essa diferença na mortalidade nas primeiras 48 horas esteja relacionada com variabilidade intrínseca da população, ou relacionada à sensibilidade do lote de organismos utilizados nos ensaios, evidenciado pela diferença na reprodução dos controles dos ensaios, embora a sensibilidade dos cultivos tenham se encontrado dentro dos limites da carta-controle.

Na literatura consultada não foram reportados ensaios para avaliação dos efeitos do Triclosan com nenhuma espécie de cladóceros no que diz respeito à contaminação dos sedimentos.

No presente trabalho, as neonatas geradas pelas *C. dubia* expostas ao sedimento contaminado com Triclosan não apresentaram malformações. O mesmo resultado foi obtido em estudo realizado por LAMEIRA (2008), onde não foram observadas malformações em neonatas de *Ceriodaphnia silvestrii* expostas a testes de toxicidade em água com Triclosan.

Existem diversos trabalhos reportados na literatura quanto à contaminação da coluna d'água de ambientes aquáticos por Triclosan, porém em relação aos sedimentos existem muito poucos trabalhos.

Em 2003, AGÜERA e colaboradores encontraram Triclosan nos sedimentos marinhos próximos a ETEs na Espanha (0,27 µg.Kg<sup>-1</sup> a 130,7 µg.Kg<sup>-1</sup>). Em estudo

realizado por LAMARDO (2009, Comunicação Pessoal)<sup>1</sup> no Brasil, foram encontradas concentrações de Triclosan na faixa de  $\text{ng.Kg}^{-1}$  em sedimentos do complexo estuarino de Santos nas proximidades do porto de Santos e do Emissário Submarino de esgoto da cidade.

Embora as concentrações que causem efeito em *C. dubia* sejam maiores que as encontradas nos trabalhos de AGÜERA (2003) e LAMARDO (2009, Comunicação Pessoal)<sup>2</sup>, estes organismos podem sofrer efeitos adversos de forma indireta, como por exemplo, por via alimentar. Deve-se, ainda, considerar que o fator de diluição no ambiente marinho é maior que na maioria dos corpos d'água doce, onde se espera encontrar concentrações muito mais altas de Triclosan. Mais estudos devem ser realizados quanto à contaminação dos sedimentos por Triclosan e seu comportamento e efeitos na biota.

## **6.2. Avaliação da toxicidade em água para *Ceriodaphnia dubia***

Os organismos da espécie *Ceriodaphnia dubia* representam um papel extremamente importante aos ecossistemas aquáticos, pois são responsáveis pela conversão de fitoplâncton e bactérias em proteína animal, que é disponibilizada para os animais superiores (COONEY, 1995). Nos últimos anos observa-se que os ensaios de ecotoxicidade crônica utilizando *C. dubia* como organismo-teste tem crescido significativamente devido à facilidade de cultivo, baixo custo e grande representatividade ecológica dos resultados gerados.

De acordo com LINDSTRÖM *et al.* (2002), o pH é um fator que influencia na toxicidade do Triclosan. Em condições de acidez, aumenta as condições de bioacumulação do Triclosan, já com pH acima de 8, o Triclosan fotodegrada rapidamente, diminuindo sua capacidade de bioacumulação. No presente trabalho, os valores de pH apresentaram-se próximo ao pH neutro (7), portanto, não interferindo na

---

<sup>1</sup> Dra. Eliete Zanardi Lamardo, Universidade Federal de Pernambuco (Comunicação Pessoal).

<sup>2</sup> Dra. Eliete Zanardi Lamardo, Universidade Federal de Pernambuco (Comunicação Pessoal).

toxicidade do produto. Em 2006, SANCHEZ-PRADO *et al.*, constataram, através de experimentos com “photo solid-phase microextraction” (photo-SPME) e simulador solar, que a fotodegradação do Triclosan gera dioxinas (2,8-dichlorodibenzo-*p*-dioxin) independentemente do valor de pH da água. Em experimento realizado por ARANAMI & READMAN (2007), foi constatado que a formação de dioxinas ocorre em apenas 3 dias de exposição a luz artificial (lâmpada fluorescente).

Além do pH e luz, um outro fator que pode influenciar nos ensaios de ecotoxicidade com *C. dubia* com Triclosan é a degradação biológica por parte das bactérias presentes no alimento composto fornecido na dieta dos organismos. De acordo com LINDSTRÖM *et al.* (2002), a degradação biológica do Triclosan gera como subproduto o metil-triclosan, um composto com maior lipofilicidade e de difícil fotodegradação, que é um composto muito mais tóxico.

Neste trabalho, além da avaliação da toxicidade para *C. dubia* utilizando a dieta recomendada nas normas (algas e alimento composto), procurou-se estudar a influencia do alimento composto na toxicidade do Triclosan, realizando-se ensaios onde os organismos foram alimentados somente com algas.

Verificou-se que nos testes com dieta à base de algas e ração o valor de CEO de 0,08 mg.L<sup>-1</sup> de Triclosan apresentou toxicidade maior que os testes realizados com dieta à base somente de algas (CEO de 0,16 mg.L<sup>-1</sup>), estando a causa provavelmente relacionada à formação de subprodutos de degradação, como aqueles discutidos por SANCHEZ-PRADO *et al.* (2006) e LINDSTRÖM *et al.* (2002). Resultados semelhantes foram observados em estudo realizado LAMEIRA (2008), utilizado *C. silvestrii* como organismo-teste. Outra hipótese para a maior toxicidade observada nos testes com dieta à base de algas e ração seria que as bactérias presentes na ração podem bioacumular Triclosan, tornando-se mais uma via de exposição do Triclosan para *C. dubia* através da ingestão, em um processo denominado biomagnificação.

Atualmente existe grande discussão quanto à liberação ou restrição do uso do Triclosan por parte de empresas e órgãos ambientais. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) está levantando dados para uma reunião que

está marcada para 2013, onde será decido o destino desta substância (USEPA, 2008). Os dados gerados no presente trabalho poderão complementar as análises de risco realizadas até o momento para futura tomada de decisão.

Outra questão relevante que deve ser levada em consideração refere-se à destinação final dos resíduos de origem farmacêutica. Na atual situação da economia mundial, globalizada, as diretrizes econômicas são voltadas a incentivar o mercado, tanto produtor como consumidor, porém, cada vez mais os órgãos ambientais nacionais e internacionais têm pressionado a sociedade para uma redução dos índices de poluição. Os resíduos sólidos despertam grande atenção principalmente devido ao seu volume e dificuldade de disposição final.

No Brasil, a Resolução CONAMA nº 358/2005, que dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde, exige apenas que os resíduos gerados sejam descartados de maneira adequada, ficando a critério das indústrias o tratamento e descarte adequado dos resíduos. Uma vez comercializado os produtos, eles são descartados sem qualquer critério, como é o caso do descarte pela população de produtos com datas de validade vencidas e suas embalagens.

Políticas públicas e de conscientização da população deveriam ser estabelecidas para um descarte adequado dos produtos e embalagens, a fim de reduzir o aporte destes no meio ambiente. Além disso, as informações relativas a avaliação e gerenciamento de risco deveriam ser compreensíveis a todos os interessados, seja comunidade científica, grupos políticos, organizações não governamentais ou população em geral. A televisão e os jornais são as principais fontes de informação para maior parte da sociedade, sendo que o papel destes se torna decisivo nos processos de formação de opinião sobre a problemática ambiental.

Cada vez mais as sociedades vêm discutindo o tema “Privatização dos lucros e a socialização dos prejuízos”. Com base em tratados e convenções internacionais, deve-se firmar a idéia de que os países precisam atuar juntos na questão ambiental e não somente tentar resolver os problemas nos limites de suas fronteiras, pois o ar e a água que são poluídos em um determinado país serão os mesmos que circularão nos países

vizinhos (CHIUVITE & ANDRADE, 2001), como acontece principalmente na Europa, onde existem vários rios que atravessam diversos países como, por exemplo, o Rio Danúbio, que atravessa vários países como Alemanha, Áustria, Eslováquia, Hungria, Croácia, Sérvia, Bulgária, Romênia e Ucrânia. Em estudo realizado por BILA & DEZOTTI (2003) foi feito um levantamento de diversos trabalhos, apontando fármacos encontrados em rios que atravessam alguns países na Europa, o que reforça a idéia de “privatização dos lucros e globalização da poluição”.

No final de 2006, entrou em vigor uma política da União Européia para o uso de substâncias químicas, denominado REACH, (*Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical substances*) (EUROPEAN UNION, 2006). O REACH é um sistema integrado único que tem como objetivo aumentar a proteção à saúde humana e ao meio ambiente através de um melhor conhecimento das substâncias químicas comercializadas, uma vez que exige uma série de testes físicos, químicos e biológicos para liberação dos produtos, assim como a tomada das medidas necessárias para gerir todos os riscos que forem identificados. Essa diretiva abre caminho para uma maior competitividade e inovação das indústrias de produtos químicos, sintetizando compostos cada vez mais eficientes e menos tóxicos ao meio ambiente e à saúde humana, tanto para países da União Européia, como outros não integrantes que pretendam exportar seus produtos.

Os estudos ecotoxicológicos são de grande importância na determinação dos efeitos adversos provocados às comunidades aquáticas, causados pela emissão de substâncias tóxicas ao meio ambiente. A utilização dos ensaios de toxicidade no controle da poluição ambiental oferece subsídios fundamentais para avaliações de risco ecológico de uma determinada substância de forma prática, econômica e eficiente. A tendência no Brasil é que os ensaios ecotoxicológicos sejam bem estabelecidos e padronizados, a fim de se obter uma boa reprodutibilidade de resultados, independente da amostra ou laboratório responsável pela realização dos ensaios, aumentando ainda mais a confiabilidade dessas análises.

Investigar os efeitos causados pelo Triclosan e outros compostos utilizados em PPCPs, assim como os impactos nos ecossistemas e na biota aquática, devem ser considerados nos processos de planejamento e urbanização de grandes cidades.

## 7. CONCLUSÕES

- Na avaliação da toxicidade aguda em sedimento enriquecido com Triclosan para *Chironomus xanthus* o valor de CE(L)50;96h foi de 45,26 mg.Kg<sup>-1</sup>.
- Os valores de CENO e CEO para os ensaios de ecotoxicidade crônica com sedimento enriquecido com Triclosan para *Ceriodaphnia dubia* foram 5,78 e 6,94 mg.Kg<sup>-1</sup> de Triclosan, respectivamente.
- Concentrações de Triclosan entre 4,01 a 10,0 mg.Kg<sup>-1</sup> não causaram malformações em neonatas de *Ceriodaphnia dubia* nos ensaios de toxicidade crônica com sedimento enriquecido.
- Os valores de CENO e CEO para os ensaios de ecotoxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* com dieta à base de algas e alimento composto foram de 0,04 e 0,08 mg.L<sup>-1</sup>, de Triclosan, respectivamente.
- Os valores de CENO e CEO para os ensaios de ecotoxicidade crônica em água com *Ceriodaphnia dubia* com dieta somente à base de algas foram de 0,08 e 0,16 mg.L<sup>-1</sup> de Triclosan, respectivamente.
- A toxicidade de Triclosan nos testes para avaliação da toxicidade crônica com *Ceriodaphnia dubia* com dieta à base de algas e alimento composto foi mais elevada que nos ensaios com dieta à base de algas, provavelmente devido a degradação biológica do Triclosan pelas bactérias presentes no alimento composto, que pode gerar subprodutos mais tóxicos que o próprio Triclosan, ou ainda devido a exposição via alimentar através das bactérias.
- Concentrações de Triclosan entre 0,005 a 0,16 mg.Kg<sup>-1</sup> não causaram malformações em neonatas de *Ceriodaphnia dubia* nos ensaios de ecotoxicidade crônica em água.
- Considerando os resultados de toxicidade do Triclosan em água observados no presente estudo, e aplicando os critérios de classificação da Diretriz Européia 93/67/EEC, pode-se considerar esse composto como “Muito Tóxico”, uma vez que efeitos foram observados em concentrações em torno de 0,1 mg/L.

## 8. RECOMENDAÇÕES

Devido ao aumento eminente do consumo dessa substância e os prováveis efeitos em níveis menores de organização biológica, como tecidos, células e enzimas entre outros, recomenda-se como medidas preventivas, mitigadoras e/ou remediadoras a melhoria na rede coletora e nas ETEs para uma melhor remoção dos PPCP, visto que mesmo as ETEs com sistema secundário de tratamento não removem completamente estes compostos. A inexistência de um tratamento adequado de esgoto pode ainda comprometer a qualidade da água de abastecimento, tendo em vista que devido à baixa eficiência das ETA, as quais, de acordo com SODRÉ et. al. (2007), ainda usam tecnologia simples e convencional, estabelecidas há mais de um século, não são capazes de tratar águas oriundas de mananciais contaminados com PPCP.

Recomenda-se, ainda, o estabelecimento de políticas de conscientização e controle do descarte de medicamentos pela população, a fim de reduzir a concentração desses compostos no ambiente.

Um fator de grande importância para se obter sucesso nas medidas de gerenciamento dos riscos associados ao descarte dos PPCP é o incentivo à participação da comunidade científica e da população sob risco no delineamento das atividades de gerenciamento, assim como a comunicação dos riscos por parte da mídia e políticos.

Devido ao escasso conhecimento sobre a relação entre as concentrações de PPCP nos sedimentos e sua biodisponibilidade para os organismos e a coluna d'água, principalmente em ambientes tropicais e subtropicais, existe a necessidade de mais estudos que determinem os efeitos desses contaminantes nos sedimentos, assim como avaliações sobre a bioacumulação e biomagnificação destes compostos.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABESSA, D.M.S. **Avaliação da qualidade de sedimentos do Sistema Estuarino de Santos, SP, Brasil**. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 2002. 290 p.

ABESSA, D.M.S. **Testes de toxicidade de sedimentos da região de Santos – SP – Brasil (240S; 460W); Utilizando o anfípoda escavador *Tiburonella viscana* (Crustácea – Platyschnopidae) Thomas & Barnard (1983)**. Dissertação de mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 1996. 97p.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade de sedimento - Método de ensaio com *Hyaella* spp (Amphipoda)**. Rio de Janeiro, 2006.

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica - Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Cladocera, Crustacea)**. Rio de Janeiro, 2005. NBR 13373.

ADOLFSSON-ERICI, M.; PETTERSSON, M.; PARKKONEN, J.; STURVE, J. **Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden**. Chemosphere 46 (2002) 1485–1489p.

AGÜERA, A.; FERNÁNDEZ-ALBA, A.R.; PIEDRA, L.; MÉZCUA, M.; GÓMEZ, M.J. **Evaluation of triclosan and biphenylol in marine sediments and urban wastewaters by pressurized liquid extraction and solid phase extraction followed by gas chromatography mass spectrometry and liquid chromatography mass spectrometry**. Analytica Chimica Acta 480 (2003) 193–205p.

ALLMYR, M.; ADOLFSSON-ERICI, M.; MCLACHLAN, M.S; SANDBORGH-ENGLUND, G. **Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products**. Science of the Total Environment 372 (2006) 87–93p.

ALMEIDA, C.A. **Aspectos do ciclo de vida de espécies bentônicas nativas e sua utilização na avaliação da qualidade de sedimentos de lagos naturais e reservatórios.** Tese de Doutorado. Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. 2007. 181p.

ALVES, L.C.; BORGMANN, U.; DIXON, D.G. **Water–sediment interactions for *Hyalella azteca* exposed to uranium-spiked sediment.** Aquatic Toxicology 87. 2008. 187–199p.

ARANAMI, K. & READMAN, J.W. **Photolytic degradation of Triclosan in freshwater and seawater.** Chemosphere 66. 2007. 1052-1056.

BAYNE, B.L; CLARKE, K.R.; GRAY, J.S. **Background and rationale to a practical workshop on biological effects of pollutants.** Mar. Eco. Prog. Ser., 46: 1-5. 1988.

BENDZ, D.; PAXÉUS, N.A.; GINN, T.R.; LOGE, F.J. **Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden.** Journal of Hazardous Materials 122 (2005) 195–204p.

BERTOLETTI, E. 1990. **Toxicidade e Concentração de Agentes Tóxicos em Efluentes Industriais.** Revista Ciência e Cultura. 43 (3/4) : 271-277. São Paulo.

BILA, D.M. & DEZOTTI, M. **Presença de Poluentes Emergentes no Meio Ambiente.** Revista de Ciência & Tecnologia. vol 6 – nº 1 – Jun/2006.

BILA, D.M. & DEZOTTI, M. **Fármacos No Meio Ambiente.** Química Nova, Vol. 26, No. 4, 523-530, 2003.

BLAISE, C.; GAGNÉ, F.; EULLAFFROY, P.; FÉRARD, J-F. **Ecotoxicity Of Selected Pharmaceuticals Of Urban Origin Discharged To The Saint-Lawrence River (Québec, Canada): A Review.** Braz. J. Aquat. Sci. Technol., 2006, 10(2):29-51.

BOHRER, M.B.C. **Biomonitoramento das Lagoas de Tratamento Terciário dos Efluentes Líquidos Industriais (SITEL) do Pólo Petroquímico do Sul, Triunfo, RS,**

**Através da Comunidade Zooplantônica.** São Carlos, UFSCar, 1995. 470p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais), Departamento de Ciências, Universidade de São Carlos, 1995.

BRAGA, B.; HESPANHOL, I.; CONEJO, J.G.L.; BARROS, M.T.L.; JUNIOR, M.S.V.; PORTO, M.F.A.; NUCCI, N.L.R.; JULIANO, N.M.A.; EIGER, S. **Introdução À Engenharia Ambiental.** Escola Politécnica da Universidade de São Paulo Departamento de Engenharia Hidráulica e Sanitária. São Paulo: Prentice Hall. 2002. 305p.

BRASIL. **Resolução Federal. CONAMA N.º 357.** Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências.

BRASIL. **Resolução Federal. CONAMA N.º 358.** Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.

BRASIL. **Resolução Federal. CONAMA N.º 344.** Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, de 25 de março de 2004. Estabelece as diretrizes gerais e os procedimentos mínimos para a avaliação do material a ser dragado em águas jurisdicionais brasileiras, e dá outras providências.

BRASIL. **Resolução Federal. CONAMA N.º 20,** de 18 de junho de 1986 Conselho Nacional do Meio Ambiente. Brasília, Diário Oficial da União, 30 de junho de 1986. Dispõe sobre o enquadramento dos corpos d'água e dá outras providências.

BURTON Jr., G.A., and MACPHERSON, C. **Sediment Toxicity Testing Issues and Methods.** IN: HOFFMAN, D.J.; RATTNER, B.A.; BURTON, G.A., Jr.; CAIRNS, J., Jr. **Handbook of Ecotoxicology.** Lewis Publishers. 1995. 755p.

BURTON Jr., G.A.; NELSON, M.K.; INGERSOLL, C.G. **Freshwater Benthic Toxicity Tests. IN: BURTON Jr., G.A. Sediment Toxicity Assessment.** Lewis Publishers. 1992.

Cal/EPA – California Environmental Protection Agency. **Overview of Freshwater and Marine Toxicity Tests.** 2004. 147p.

CARSON, R. **Silent Spring.** Boston: Houghton Mifflin, 1962.

CEC (Commission of the European Communities). **Technical guidance document in support of commission directive 93/67/ EEC on risk assessment for new notified substances. Part II, environmental risk assessment.** Luxembourg: Office for official publication of the European Communities; 1996.

CESAR, A.; MARÍN-GUIRAO, L.; VITA, R.; MARÍN, A. **Sensibilidad de anfípodos y erizos del Mar Mediterráneo a sustancias tóxicas de referencia.** Ciencias Marinas. (2002), 28(4): 407-417p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Qualidade das águas interiores no Estado de São Paulo: série relatórios.** São Paulo: CETESB, 2009. 528p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Sedimentos: Determinação da distribuição granulométrica.** São Paulo: CETESB, 1995. Norma Técnica L6 160.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Procedimentos para utilização de testes de toxicidade no controle de efluentes líquidos.** São Paulo: CETESB, 1990. 17p.

CHAPMAN, D.V. **Concepts and strategies for biological monitoring.** London, GEMS / Monitoring and assessment Research Center, 25 p. 1989.

CHAPMAN, P.M.; HO, K.; MUNNS Jr, W.R.; SOLOMON, K.; WEINSTEIN, M.P. **Issues in sediment toxicity and ecological risk assessment**. Marine Pollution Bulletin 44 (2002) 271-278p.

CHIUVITE, T.B.S. & ANDRADE, T.C.S. **Gerenciamento de Resíduos: aspectos técnicos e legais**. Revista Meio Ambiente Industrial. Ano V. Edição 30, nº 29. Março/Abril, 2001.

CINIGLIA, C.; CASCONI, C.; GIUDICE, R.L.; PINTO, G.; POLLIO, A. **Application of methods for assessing the geno- and cytotoxicity of Triclosan to *C. ehrenbergii***. Journal of Hazardous Materials. 122 (2005) 227–232P.

COELHO, R.S. **Avaliação da Qualidade da Água do Córrego Franquinho, Sub-Bacia Tiquatira/Franquinho, Unidade Hidrográfica do Alto Tietê, São Paulo, SP**. Dissertação de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - Universidade de São Paulo (USP), São Paulo. 2001. 146p.

COONEY, J.D. **Sediment Tests**. In: RAND, G.M. **Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment**. Washington USA: Taylor & Francis. 1995.

CORTEZ, F.S.; PUSCEDDU, F.H.; SANTOS, A.R.; CESAR, A.; PEREIRA, C.D.S.; BOHRER-MOREL, M.B. **Avaliação da toxicidade do fármaco Triclosan através de ensaio crônico de curta duração com ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea)**. Livro de Resumos do X Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia. Bento Gonçalves, Brasil. 2008.

DAYAN, A.D. **Risk assessment of triclosan [Irgasan®] in human breast milk**. Food and Chemical Toxicology 45 (2007) 125–129p.

DERISIO, J.C. **Introdução ao Controle de Poluição Ambiental**. 1ª Ed. 1992. 201p.

ENVIRONMENT CANADA. Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. Summary Tables. 2002. Disponível em: <http://www.ec.gc.ca> Acesso em 15 de novembro de 2009.

EWG. ENVIRONMENTAL WORKING GROUP. Skin Deep Database. (<http://www.ewg.org>). 2009.

EUROPEAN UNION. **Regulation (EC) N° 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006**. Official Journal of the European Union. Concerning the Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) N° 793/93 and Commission Regulation (EC) N° 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC.

FERNICOLA, N.A.G.G.; BOHRER-MOREL, M.B.C.; BAINY, A.C.D. Ecotoxicologia. IN: AZEVEDO, F.A. & CHASIN, A.A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos : RiMa, 2003. São Paulo : Intertox, 2003. 340p.

FONSECA, A.L. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustácea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Pisces, Poecillidae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluentes industriais**. Dissertação de Mestrado em Hidráulica e Saneamento. Escola de Engenharia de São Carlos. Universidade de São Paulo. 1991. 210p.

FRANCIS, P.C.; BIRGE, W.J.; BLACK, J.A. **Effects of Cadmium-Enriched Sediment on Fish and Amphibian Embryo-Larval Stages**. Ecotoxicology and Environmental Safety 8, (1984). 378-387p.

GAGNÉ, F.; BLAISE, C.; ANDRÉ, C. **Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocystes**. Ecotoxicology and Environmental Safety 64 (2006) 329-336p.

GHISELLI, G. **Avaliação da Qualidade das Águas Destinadas ao Abastecimento Público na Região de Campinas: Ocorrência e Determinação dos Interferentes Endócrinos (IE) e Produtos Farmacêuticos e de Higiene Pessoal (PFHP)**. Tese de Doutorado. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas. 2006. 181p.

GUIMARÃES, E.S.; LACAVAL, P.M.; MAGALHÃES, N.P. **Avaliação da Toxicidade Aguda com *Daphnia Similis* na Água Captada no Rio Paraíba do Sul e Processada na Estação de Tratamento de Água do Município de Jacareí - SP – BRASIL**. 23º Congresso de Engenharia Sanitária e Ambiental. Campo Grande, MS. Set. - 2005. Vol. 9 - Nº 2 – abr./jun., 2004. 124-130 p.

HACON, S.S. Avaliação e gestão do risco ecotoxicológico à saúde humana. IN: AZEVEDO, F.A. & CHASIN, A.A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos : RiMa, 2003. São Paulo : Intertox, 2003. 340p.

HALDEN, R. & PAULL, D. **Co-Occurrence of Triclocarban and Triclosan in U.S. Water Resources**. Environ. Sci. Technol. 2005, 39,1420-1426p.

HAMILTON, M.A., RUSSO, R.C., THURTON, R.V. **Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays**. Environ. Sci. Technol., New York, 1977. v. 11, n. 7, p. 714 – 719.

HIRSCH R.; TERNES, T.; HABERER, K.; KRATZ K.-L. **Occurrence of antibiotics in the aquatic environment**. The Science of the Total Environment, Volume 225, Number 1. 1999. 109-118p.

HUA, W; BENNETT, E.R.; LETCHER, R. J. **Triclosan in waste and surface waters from the upper Detroit River by liquid chromatography-lectrospray-tandem quadrupole mass spectrometry**. Environment International 31 (2005) 621– 630p.

INGERSOLL, C.G. **Sediment tests**. In: RAND, G.M. **Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment**. Washington USA: Taylor & Francis. 1995.

ISHIBASHI, H.; MATSUMURA, N.; HIRANO, M.; MATSUOKA, M.; SHIRATSUCHI, H.; ISHIBASHI, Y.; TAKAO, Y.; ARIZONO, K. **Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin.** Aquatic Toxicology. 67 (2004) 167–179p.

KNIE, J.L.W.; LOPES, E.W.B. **Testes ecotoxicológicos: Métodos Técnicas e Aplicações.** Florianópolis: FATMA, 2004. 289p.

KUSTER, M.; ALDA, M.J.L.; HERNANDO, M.D.; PETROVIC, M.; MARTÍN-ALONSO, J.; BARCELÓ, D. **Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens, and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain).** Journal of Hydrology (2008) 358, 112-123p.

LAMEIRA, V. **Estudo dos efeitos letais e subletais (reprodução e teratogênese) do fármaco Triclosan para *Daphnia similis*, *Ceriodaphnia dubia*, *Ceriodaphnia silvestrii* (CLADOCERA, CRUSTACEA).** Dissertação de mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo. 2008. 209p.

LAMEIRA, V.; PUSCEDDU, F.H.; SILVA, A.M.; BOHRER, M.B. **Efeito letal e subletal do Triclosan em organismos aquáticos.** Livro de Resumos do VIII Congresso SETAC LA. Montevideo, Uruguai. 2007.

LINDSTRÖM, A.; BUERGE, I.J.; POIGER, T.; BERGQVIST, P.; MÜLLER, M.D.; BUSER, H. **Occurrence and environmental behavior of the bactericide Triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater.** Environ. Sci. Technol. 2002, 36, 2322-2329p.

LORES, M.; LLOMPART, M.; SANCHEZ-PRADO, L.; GARCIA-JARES, C.; CELA, R. **Confirmation of the formation of dichlorodibenzo-*p*-dioxin in the photodegradation of triclosan by photo-SPME.** Short Communication. Anal Bioanal Chem (2005) 381: 1294–1298p.

MOORE, M.M.; LIVINGSTONE, D.R.; WIDDOWS, J.; LOWE, D.M.; PIPE, R.K. **Molecular, cellular and physiological effects of oil-derived hydrocarbons on molluscs and their use in impact assessment.** Phil. Trans. R. Soc. Lond., B 316:603-623. 1987.

MULROY, A. When the cure is the problem. *Water Environment Technology*. 13(2): 32-36. 2001.

MUNAWAR, M.; DERMOTT, R.; MCCARTHY, L.H.; MUNAWAR, S.F.; VANSTAM, H.A. **A comparative bioassessment of sediment toxicity in lentic and lotic ecosystems of the North American Great Lakes.** *Aquatic Ecosystem Health and Management*. (2) 367-378p. 1999.

NEWMANN, M.C. & UNGER, M. A. **Fundamentals of Ecotoxicology.** 2<sup>nd</sup>. Lewis Publishers. 2003.

NISHI, I.; KAWAKAMI, T.; ONODERA, S.; **Monitoring of Triclosan in the Surface Water of the Tone Canal, Japan.** *Bull Environ Contam Toxicol* (2008) 80:163-166p.

NORTHCOTT, G.L. & JONES, K.C. **Spiking hydrophobic organic compounds into soil and sediment: A review and critique of adopted procedures.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 19, No. 10, pp. 2418–2430, 2000.

ODUM, E.P. **Ecologia.** Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 368p.

OECD – Organization for Economic Co – operation and Development. **Sediment – Water Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment.** Guideline 218. 2004.

OECD – Organization for Economic Co – operation and Development. **Earthworm acute toxicity tests.** Guidelines for the testing of chemicals No. 207. Adopted 4 April 1984.

OPAS/OMS. Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde. **Água e Saúde.** Brasil. 2001. Disponível em: <http://www.opas.org.br/sistema/fotos/agua.PDF>. Acesso em 04 de novembro de 2008.

ORVOS, D. R., VERSTEEG, D.J., INAUEN, J.,CAPDEVIELLE, M., ROTHENSTEIN, A., CUNNINGHAM, V. **Aquatic toxicity of Triclosan.** Environmental Toxicology and Chemistry, 21, 2002. 1338-1349p.

PÉRY, A.R.R.; DUCROT, V.; MONS, R.; GARRIC, J. **Modelling toxicity and mode of action of chemicals to analyse growth and emergence tests with the midge *Chironomus riparius*.** Aquatic Toxicology 65. 2003. 281–292p.

PORTELA, C.M.S. **Avaliação ecotoxicológica do Arroio Sapucaia, RS, com a utilização de diferentes metodologias em água superficial e sedimento.** Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2002. 89p.

RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications.** New York: Hemisphere Publishing Corporation, 1985.

RAND, G.M., WELLS, P.G. & MACCARTY, L.S. **Introduction to Aquatic Toxicology.** In: **RAND, G.M. Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment.** Washington USA: Taylor & Francis. 1995.

REISS, R.; MACKAY, N.; HABIG, C.; GRIFFIN, J. **An ecological risk assessment for Triclosan in lotic systems following discharge from wastewater treatment plants in the United States.** Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 21, No. 11, pp. 2483–2492, 2002.

ROCHA, O., SENDACZ, S. & MATSUMURA-TUNDISI, T. **Composition, biomass and productivity of zooplankton in natural lakes and reservoirs of Brazil.** In: **J. G. Tundisi, C. E. M. Bicudo & T. Matsumura-Tundisi (eds.). Limnology in Brazil.** Rio de Janeiro. Brazilian Academy of Sciences and Brazilian Limnological Society, 384p. 1995.

SABALIUNAS, D.; WEBB, S.F.; HAUKE, A.; JACOB, M. **Environmental fate of Triclosan in the River Aire Basin, UK.** Water Research 37 (2003) 3145–3154p.

SANCHEZ-PRADO, L.; LLOMPART, M.; LORES, M.; GARCÍA-JARES, C; BAYONA, J.M.; CELA, R. **Monitoring the photochemical degradation of triclosan in wastewater by UV light and sunlight using solid-phase microextraction.** Chemosphere 65 (2006) 1338–1347p.

SÃO PAULO. **Resolução SMA N.º 37.** Secretaria do Meio Ambiente, de 30 de agosto de 2006. Dispõe sobre os requisitos dos laudos analíticos submetidos aos órgãos integrantes do Sistema Estadual de Administração da Qualidade Ambiental, Proteção, Controle e Desenvolvimento do Meio Ambiente e Uso Adequado dos Recursos Naturais – SEAQUA.

SÃO PAULO. **Resolução SMA N.º 3.** Secretaria do Meio Ambiente, de 22 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre controle ecotoxicológico de efluentes líquidos no Estado de São Paulo.

SETAC – Society of Environmental Toxicology and Chemistry. **Human Pharmaceuticals: Assessing the Impacts on Aquatic Ecosystems.** 978-1-880611-82-1, 2005. 392 pp,

SILVA, A.M. **Avaliação da qualidade do Rio São Lourenço, SP, sob influência de estações de tratamento de água e estações de tratamento de esgoto.** Tese de doutorado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo. 2008. 157p.

SILVA, A.M. **Avaliação ecotoxicológica do agrotóxico Permetrina através de ensaios de toxicidade com invertebrados aquáticos.** Dissertação de mestrado. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo. 2005. 162p.

SILVÉRIO, P.F. **Bases técnico-científicas para a derivação de valores-guias de qualidade de sedimentos para metais: experimentos de campo e laboratório.** Tese

de Doutorado – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2003. 145p.

SIMPSON, S.L.; BATLEY, G.E.; CHARITON, A.A.; SATUBER, J.L.; KING, C.K.; CHAPMAN, J.C.; HYNE, R.V.; GALE, A.S.; ROACH, A.C.; MAHER, W.A. (2005). **Handbook For Sediment Quality Assessment**. (CSIRO: Bangor, NSW) pp. 16 – 19.

SIMPSON, S.L.; ANGEL, B.M.; JOLLEY, D.F. **Metal equilibration in laboratory-contaminated (spiked) sediments used for the development of whole-sediment toxicity tests**. Chemosphere 54 (2004) 597–609p.

SODRÉ, F.F.; MONTAGNER, C.C.; LOCATELLI, M.A.F.; JARDIM, W.F. **Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil)**. Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology. v 2, n.2. 2007. 187-196p.

STRIXINO, S.T. **Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancarlensis sp. n.* (Díptera: Chironomidae)**. Tese de doutorado. Instituto de Biociências da Universidade Federal de São Carlos. 1980. 349p.

STRIXINO, S.T. **A largura da cabeça na determinação das fases larvais de Chironomidae na Represa do Lobo**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Biociências da Universidade Federal de São Carlos. 1973. 289p.

STUMPF, M.; TERNES, T.A.; WILKEN, R.D.; RODRIGUES, S.V.; BAUMANN, W. **Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil**. The Science of the Total Environment. 225 (1999) 135-141p.

TERNES, T.A.; STUMPF, M.; MUELLER, J.; HABERER, K.; WILKEN, R.D.; SERVOS, M. **Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants - I. Investigations in Germany, Canada and Brazil**. The Science of the Total Environment 225 (1999) 81-90p.

THOMAS, P.M. & FOSTER, G.D. **Tracking acidic pharmaceuticals, Caffeine, and Triclosan through the wastewater treatment process.** Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 24, No. 1, pp. 25–30, 2005.

TIXIER, C.; SINGER, H.P.; CANONICA, S.; MÜLLER, S.R. **Phototransformation of Triclosan in Surface Waters: A Relevant Elimination Process for This Widely Used Biocides-Laboratory Studies, Field Measurements, and Modeling.** Environ. Sci. Technol. 2002, 36, 3482-3489p.

TOCCHETTO, M. R. L.; PEREIRA, L.C. **Desempenho Ambiental e Sustentabilidade.** Disponível em: <http://www.guiaecologico.com.br/leitura.php?id=46>. Acesso em 04 de novembro de 2008.

TUREKIAN, K.K. & WEDEPOHL, K.H. Distribution of the Elements in Some Major Units of the Earth's Crust. Geological Society of America Bulletin, v. 72. 1961. 175-192p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Reregistration Eligibility Decision for Triclosan.** List B. Case No. 2340. 2008. 98p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms.** Fifth edition. EPA-821-R-02-012. 2002a. 266p.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms.** Fourth Edition. EPA-821-R-02-013. 2002b.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. Technical Manual. Methods for collection, storage and manipulation of sediments for chemical and toxicological analyses. Chapter 5: Sediment Manipulations. 2001.

USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Toxicology Handbook.** Government Institutes, Inc., 1989.

XIE, Z.; EBINGHAUS, R.; FLÖSER, G.; CABA, A.; RUCK, W. **Occurrence and distribution of triclosan in the German Bight (North Sea)**. Environmental Pollution (2008) 1-6p.

WALTMAN, E.L.; VENABLES, B.J.; WALLER, W.T. **Triclosan in a North Texas Wastewater Treatment Plant and the influent and effluent of an experimental constructed Wetland**. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 25, No. 2, pp. 367–372, 2006.

WEST, Inc. & GULLEY, D. Western Ecosystems Technology. **TOXTAT 3.4 Computer Program.**, 1994.

ZAGATTO, P. Z. & BERTOLETTI, E. (ed.). **Ecotoxicologia Aquática - Princípios e Aplicações**. São Carlos BR: Rima Editora. 2006. 464p.

ZHANG, L.; GIBBLE, R.; BAER, K.N. **The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development, and reproduction in *Daphnia magna***. Ecotoxicology and Environmental Safety 55 (2003) 330–337p.

## **ANEXO 1 – Fichas de segurança de produtos químicos**

# Material Safety Data Sheet



647950

Triclosan

## 1. Product and company identification

**Supplier/Manufacturer** : EMD Chemicals, Inc.  
10394 Pacific Center Court  
San Diego, CA 92121  
(858)450-5558/(800)854-3417  
FAX: (858)453-3552

**In case of emergency** Call Chemtrec®  
(800)424-9300 (within U.S.A.)  
(703)527-3887 (outside U.S.A.)

**Responsible name** : **Company**  
Not available.

**Synonym** : ether, 2'-hydroxy-2,4,4'-trichlorodiphenyl

**Product name** : Triclosan

**Material uses** : Other non-specified industry: Analytical reagent.

**Validation date** : 9/9/2008.

**Print date** : 9/9/2008.

## 2. Hazards identification

**Physical state** : Solid. (Solid powder.)

**OSHA/HCS status** : This material is considered hazardous by the OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

**Emergency overview** : Warning!  
CAUSES RESPIRATORY TRACT, EYE AND SKIN IRRITATION. Dangerous for the environment. Toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.  
Avoid contact with skin and clothing. Avoid breathing dust. Keep container closed. Use only with adequate ventilation. Wash thoroughly after handling.

**Routes of entry** : Dermal contact. Eye contact. Inhalation. Ingestion.

**Potential acute health effects**

**Eyes** : Irritating to eyes.

**Skin** : MAY BE HARMFUL IF ABSORBED THROUGH SKIN. Irritating to skin.

**Inhalation** : Irritating to respiratory system.

**Ingestion** : May be harmful if swallowed.

**Potential chronic health effects** : **CARCINOGENIC EFFECTS** Not available.  
**MUTAGENIC EFFECTS** Not available.  
**TERATOGENIC EFFECTS**: Not available.

**Medical conditions aggravated by over-exposure** : Repeated skin exposure can produce local skin destruction or dermatitis. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce lung damage. Repeated exposure of the eyes to a low level of dust can produce eye irritation.

See toxicological information (section 11)

## 3. Composition/information on ingredients

### United States

| Name                                   | CAS number | %   |
|--|------------|-----|
| 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol | 3380-34-5  | 100 |

*Triclosan*

#### 4. First aid measures

- Eye contact** : Immediately flush eyes with plenty of water for at least 15 minutes, occasionally lifting the upper and lower eyelids. Check for and remove any contact lenses. Get medical attention.
- Skin contact** : Flush contaminated skin with plenty of water. Remove contaminated clothing and shoes. Get medical attention if symptoms occur. Wash clothing before reuse. Clean shoes thoroughly before reuse.
- Inhalation** : Move exposed person to fresh air. If it is suspected that fumes are still present, the rescuer should wear an appropriate mask or self-contained breathing apparatus. Keep person warm and at rest. If not breathing, if breathing is irregular or if respiratory arrest occurs, provide artificial respiration or oxygen by trained personnel. It may be dangerous to the person providing aid to give mouth-to-mouth resuscitation. Get medical attention. If unconscious, place in recovery position and get medical attention immediately. Maintain an open airway. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.
- Ingestion** : Wash out mouth with water. Remove dentures if any. Move exposed person to fresh air. Keep person warm and at rest. If material has been swallowed and the exposed person is conscious, give small quantities of water to drink. Stop if the exposed person feels sick as vomiting may be dangerous. Do not induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. If vomiting occurs, the head should be kept low so that vomit does not enter the lungs. Get medical attention if symptoms occur. Never give anything by mouth to an unconscious person. If unconscious, place in recovery position and get medical attention immediately. Maintain an open airway. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.
- Protection of first-aiders** : No action shall be taken involving any personal risk or without suitable training.

#### 5. Fire-fighting measures

- Flammability of the product** : May be combustible at high temperature.
- Products of combustion** : These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>), halogenated compounds.
- Extinguishing media**
- Suitable** : Use an extinguishing agent suitable for the surrounding fire.
- Not suitable** : None known.
- Special exposure hazards** : No specific hazard.
- Special protective equipment for fire-fighters** : Fire-fighters should wear appropriate protective equipment and self-contained breathing apparatus (SCBA) with a full face-piece operated in positive pressure mode.
- Special remarks on fire hazards** : Store under nitrogen.

#### 6. Accidental release measures

- Personal precautions** : Immediately contact emergency personnel. Keep unnecessary personnel away. Use suitable protective equipment.
- Environmental precautions** : Avoid dispersal of spilled material and runoff and contact with soil, waterways, drains and sewers.
- Methods for cleaning up** : If emergency personnel are unavailable, vacuum or carefully scoop up spilled material and place in an appropriate container for disposal by incineration. Avoid creating dusty conditions and prevent wind dispersal.

#### 7. Handling and storage

- Handling** : Avoid contact with eyes, skin and clothing. Keep container closed. Use only with adequate ventilation. Avoid breathing dust. Wash thoroughly after handling.
- Storage** : Keep container tightly closed. Keep container in a cool, well-ventilated area.

Triclosan

## 8 . Exposure controls/personal protection

Consult local authorities for acceptable exposure limits.

- Engineering measures** : Use only with adequate ventilation. If user operations generate dust, fumes, vapor or mist, use process enclosures, local exhaust ventilation or other engineering controls to keep worker exposure to airborne contaminants below any recommended or statutory limits.
- Personal protection**
- Eyes** : Safety eyewear complying with an approved standard should be used when a risk assessment indicates this is necessary to avoid exposure to liquid splashes, mists, gases or dusts.
- Skin** : Personal protective equipment for the body should be selected based on the task being performed and the risks involved and should be approved by a specialist before handling this product.
- Respiratory** : Use a properly fitted, particulate filter respirator complying with an approved standard if a risk assessment indicates this is necessary. Respirator selection must be based on known or anticipated exposure levels, the hazards of the product and the safe working limits of the selected respirator.
- Hands** : Chemical-resistant, impervious gloves complying with an approved standard should be worn at all times when handling chemical products if a risk assessment indicates this is necessary.
- Hygiene measures** : Wash hands, forearms and face thoroughly after handling chemical products, before eating, smoking and using the lavatory and at the end of the working period. Appropriate techniques should be used to remove potentially contaminated clothing. Wash contaminated clothing before reusing. Ensure that eyewash stations and safety showers are close to the workstation location.

## 9 . Physical and chemical properties

- Component** : Not available.
- Physical state** : Solid. (Solid powder.)
- Color** : White.
- Molecular weight** : 289.6 g/mole
- Molecular formula** : C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>
- Boiling/condensation point** : 280 to 260°C (536 to 500°F)
- Melting/freezing point** : 56 to 60°C (132.8 to 140°F)
- Physical/chemical properties comments** : Soluble in DMSO (50 mg/ml) or Ethanol (50 mg/ml)

## 10 . Stability and reactivity

- Stability and reactivity** : The product is stable.
- Incompatibility with various substances** : Reactive or incompatible with the following materials: oxidizing materials. Sensitive to light.
- Hazardous decomposition products** : These products are halogenated compounds.
- Conditions of reactivity** : Store under nitrogen.

## 11 . Toxicological information

### Toxicity data

#### United States

| Product/ingredient name                 | Test | Result     | Route  | Species |
|---|------|------------|--------|---------|
| 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol | LD50 | 3700 mg/kg | Oral   | Rat     |
|   | LD50 | 4530 mg/kg | Oral   | Mouse   |
|   | LD50 | 9300 mg/kg | Dermal | Rabbit  |

- Other toxic effects on humans** : Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant), of ingestion, of inhalation (lung irritant).

*Triclosan*

## 11 . Toxicological information

**Special remarks on chronic effects on humans** : Embryotoxic and/or fetotoxic in animals.

**Special remarks on other toxic effects on humans** : Material is irritating to mucous membranes and upper respiratory tract.

### Specific effects

**Carcinogenic effects** : No known significant effects or critical hazards.

**Mutagenic effects** : No known significant effects or critical hazards.

**Teratogenicity / Reproductive toxicity** : No known significant effects or critical hazards.

### Sensitization

**Ingestion** : No known significant effects or critical hazards.

**Inhalation** : Irritating to respiratory system.

**Eyes** : Irritating to eyes.

**Skin** : Irritating to skin.

## 12 . Ecological information

### Ecotoxicity data

#### United States

| <u>Product/ingredient name</u>          | <u>Species</u>             | <u>Period</u> | <u>Result</u> |
|---|----------------------------|---------------|---------------|
| 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol | Daphnia magna (EC50)       | 48 hour/hours | 0.39 mg/l     |
|   | Pimephales promelas (LC50) | 96 hour/hours | 0.25 mg/l     |
|   | Oncorhynchus mykiss (LC50) | 96 hour/hours | 0.288 mg/l    |
|   | Pimephales promelas (LC50) | 96 hour/hours | 0.36 mg/l     |

**Environmental precautions** : Very toxic to aquatic organisms. May cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

**Products of degradation** : These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>) and water, halogenated compounds.

**Toxicity of the products of biodegradation** : The products of degradation are as toxic as the product itself.

## 13 . Disposal considerations

**Waste disposal** : The generation of waste should be avoided or minimized wherever possible. Avoid dispersal of spilled material and runoff and contact with soil, waterways, drains and sewers. Disposal of this product, solutions and any by-products should at all times comply with the requirements of environmental protection and waste disposal legislation and any regional local authority requirements.

Disposal should be in accordance with applicable regional, national and local laws and regulations. Local regulations may be more stringent than regional or national requirements.

The information presented below only applies to the material as supplied. The identification based on characteristic(s) or listing may not apply if the material has been used or otherwise contaminated. It is the responsibility of the waste generator to determine the toxicity and physical properties of the material generated to determine the proper waste identification and disposal methods in compliance with applicable regulations.

Refer to Section 7: HANDLING AND STORAGE and Section 8: EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION for additional handling information and protection of employees.

| Triclosan                  |                |  |                |     |   |                        |
|----------------------------|----------------|--|----------------|-----|---|------------------------|
| 14 . Transport information |                |  |                |     |   |                        |
| Regulatory information     | UN number      | Proper shipping name   | Class          | PG* | Label   | Additional information |
| DOT Classification         | Not regulated. | -  | -              | -   |   | -                      |
| TDG Classification         | Not available. | Not available.   | Not available. | -   |   | -                      |
| ADR/RID Class              | UN3077         | ENVIRONMENTALLY HAZARDOUS SUBSTANCE, SOLID, N.O.S. (5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol) | 9              | III |  | -                      |
| IATA-DGR Class             | UN3077         | Environmentally hazardous substance, solid, n.o.s. (5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol) | 9              | III |  | -                      |

PG\* : Packing group

## 15 . Regulatory information

### United States

**HCS Classification** : Irritating material

**U.S. Federal regulations** : TSCA 8(b) inventory: 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol

SARA 302/304/311/312 extremely hazardous substances: No products were found.

SARA 302/304 emergency planning and notification: No products were found.

SARA 302/304/311/312 hazardous chemicals: No products were found.

SARA 311/312 MSDS distribution - chemical inventory - hazard identification: No products were found.

Clean Water Act (CWA) 307: 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol

Clean Water Act (CWA) 311: No products were found.

Clean Air Act (CAA) 112 accidental release prevention: No products were found.

Clean Air Act (CAA) 112 regulated flammable substances: No products were found.

Clean Air Act (CAA) 112 regulated toxic substances: No products were found.

**State regulations** : No products were found.

### Canada

#### **WHMIS (Canada)**

: Class D-2A: Material causing other toxic effects (Very toxic).

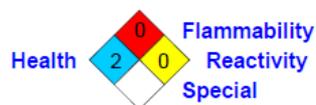
Class D-2B: Material causing other toxic effects (Toxic).

CEPA DSL: 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol

This product has been classified according to the hazard criteria of the CPR and the MSDS contains all the information required by the CPR.

### Mexico

**Classification** :



### EU regulations

Triclosan

## 15 . Regulatory information

Hazard symbol/symbols :



Risk phrases

: R36/37/38- Irritating to eyes, respiratory system and skin.  
R50/53- Very toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

Safety phrases

: S26- In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.  
S36/39- Wear suitable protective clothing and eye/face protection.  
S46- If swallowed, seek medical advice immediately and show this container or label.  
S60- This material and its container must be disposed of as hazardous waste.  
S61- Avoid release to the environment. Refer to special instructions/Safety data sheets.

### International regulations

International lists

: Australia (NICNAS): 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol  
China: 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol  
Germany water class: 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol  
Japan (METI): 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol  
Korea (TCCL): 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol  
Philippines (RA6969): 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol

## 16 . Other information

Label requirements

: CAUSES RESPIRATORY TRACT, EYE AND SKIN IRRITATION. Dangerous for the environment. Toxic to aquatic organisms, may cause long-term adverse effects in the aquatic environment.

Hazardous Material Information System (U.S.A.)

|                     |   |
|---------------------|---|
| Health              | 2 |
| Fire hazard         | 0 |
| Reactivity          | 0 |
| Personal protection | C |

National Fire Protection Association (U.S.A.)



### Notice to reader

To the best of our knowledge, the information contained herein is accurate. However, neither the above-named supplier, nor any of its subsidiaries, assumes any liability whatsoever for the accuracy or completeness of the information contained herein.

Final determination of suitability of any material is the sole responsibility of the user. All materials may present unknown hazards and should be used with caution. Although certain hazards are described herein, we cannot guarantee that these are the only hazards that exist.

# Material Safety Data Sheet



317275

Dimethyl Sulfoxide

## 1. Product and company identification

|                              |   |                             |   |
|------------------------------|---|-----------------------------|---|
| <b>Supplier/Manufacturer</b> | : EMD Chemicals, Inc.<br>10394 Pacific Center Court<br>San Diego, CA 92121<br>(858)450-5558/(800)854-3417<br>FAX: (858)453-3552 | <b>In case of emergency</b> | Call Chemtrec®<br>(800)424-9300 (within U.S.A.)<br>(703)527-3887 (outside U.S.A.) |
| <b>Responsible name</b>      | : <b>Company</b><br>Not available.  |                             |   |
| <b>Synonym</b>               | : DMSO; Methyl Sulfoxide; Sulfinylbis(methane)  |                             |   |
| <b>Product name</b>          | : Dimethyl Sulfoxide  |                             |   |
| <b>Material uses</b>         | : Other non-specified industry: Solvent.  |                             |   |
| <b>Validation date</b>       | : 6/19/2008.  |                             |   |
| <b>Print date</b>            | : 6/19/2008.  |                             |   |

## 2. Hazards identification

|   |  |
|---|--|
| <b>Physical state</b>                                 | : Liquid.  |
| <b>OSHA/HCS status</b>                                | : This material is considered hazardous by the OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).  |
| <b>Emergency overview</b>                             | : Warning!<br>CAUSES DAMAGE TO THE FOLLOWING ORGANS: SKIN, EYES, EYE, LENS OR CORNEA.<br>COMBUSTIBLE LIQUID AND VAPOR.<br>VAPOR MAY CAUSE FIRE.<br>Keep away from heat, sparks and flame. Keep container closed. Use only with adequate ventilation.                         |
| <b>Routes of entry</b>                                | : Dermal contact. Eye contact.   |
| <b>Potential acute health effects</b>                 |  |
| <b>Eyes</b>   | : Slightly irritating to the eyes.   |
| <b>Skin</b>   | : Slightly irritating to the skin.   |
| <b>Inhalation</b>                                     | : No known significant effects or critical hazards.  |
| <b>Ingestion</b>                                      | : Practically non-toxic if swallowed.  |
| <b>Potential chronic health effects</b>               | : <b>CARCINOGENIC EFFECTS</b> Not available.<br><b>MUTAGENIC EFFECTS</b> Not available.<br><b>TERATOGENIC EFFECT</b> : Not available.  |
| <b>Medical conditions aggravated by over-exposure</b> | : Repeated skin exposure can produce local skin destruction or dermatitis. Repeated or prolonged contact with spray or mist may produce chronic eye irritation and severe skin irritation. Repeated or prolonged exposure to the substance can produce target organs damage. |
| <b>See toxicological information (section 11)</b>     |  |

## 3. Composition/information on ingredients

### United States

| <b>Name</b>        | <b>CAS number</b> | <b>%</b> |
|--------------------|-------------------|----------|
| dimethyl sulfoxide | 67-68-5           | 100      |

|                           |
|---------------------------|
| <i>Dimethyl Sulfoxide</i> |
|---------------------------|

|                               |
|-------------------------------|
| <b>4 . First aid measures</b> |
|-------------------------------|

- Eye contact** : Immediately flush eyes with plenty of water for at least 15 minutes, occasionally lifting the upper and lower eyelids. Check for and remove any contact lenses. Get medical attention if irritation occurs.
- Skin contact** : Wash skin thoroughly with soap and water or use recognized skin cleanser. Get medical attention if irritation occurs. Remove contaminated clothing and shoes. Wash clothing before reuse. Clean shoes thoroughly before reuse.
- Inhalation** : Move exposed person to fresh air. Keep person warm and at rest. If not breathing, if breathing is irregular or if respiratory arrest occurs, provide artificial respiration or oxygen by trained personnel. It may be dangerous to the person providing aid to give mouth-to-mouth resuscitation. Get medical attention if symptoms occur. If unconscious, place in recovery position and get medical attention immediately. Maintain an open airway. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.
- Ingestion** : Wash out mouth with water. Remove dentures if any. Move exposed person to fresh air. Keep person warm and at rest. If material has been swallowed and the exposed person is conscious, give small quantities of water to drink. Stop if the exposed person feels sick as vomiting may be dangerous. Do not induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. If vomiting occurs, the head should be kept low so that vomit does not enter the lungs. Get medical attention if symptoms occur. Never give anything by mouth to an unconscious person. If unconscious, place in recovery position and get medical attention immediately. Maintain an open airway. Loosen tight clothing such as a collar, tie, belt or waistband.
- Protection of first-aiders** : No action shall be taken involving any personal risk or without suitable training.

|                                   |
|-----------------------------------|
| <b>5 . Fire-fighting measures</b> |
|-----------------------------------|

- Flammability of the product** : Combustible.
- Products of combustion** : These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>), sulfur oxides (SO<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub> etc.).
- Extinguishing media**
- Suitable** : Use dry chemical, CO<sub>2</sub>, water spray (fog) or foam.
- Not suitable** : Do not use water jet.
- Special exposure hazards** : Combustible liquid and vapor. Vapor may cause flash fire. Vapors may accumulate in low or confined areas or travel a considerable distance to a source of ignition and flash back. Runoff to sewer may create fire or explosion hazard.
- Special protective equipment for fire-fighters** : Fire-fighters should wear appropriate protective equipment and self-contained breathing apparatus (SCBA) with a full face-piece operated in positive pressure mode.
- Special remarks on fire hazards** : Store under nitrogen.
- Special remarks on explosion hazards** : DMSO undergoes a violent exothermic reaction on mixing with copper wool and trichloroacetic acid. On mixing with potassium permanganate, it will flash instantaneously. It reacts violently with: acid halides, cyanuric chloride, silicon tetrachloride, phosphorus trichloride and trioxide, thionyl chloride, magnesium perchlorate, silver fluoride, methyl bromide, iodine pentafluoride, nitrogen periodate, diborane, sodium hydride, and perchloric and periodic acids. When heated above its boiling point methyl sulfoxide degrades giving off formaldehyde, methyl mercaptan, and sulfur dioxide.

|  |
|--|
| <b>6 . Accidental release measures</b> |
|--|

- Personal precautions** : Immediately contact emergency personnel. Eliminate all ignition sources. Keep unnecessary personnel away. Use suitable protective equipment. Do not touch or walk through spilled material.
- Environmental precautions** : Avoid dispersal of spilled material and runoff and contact with soil, waterways, drains and sewers.

|                           |
|---------------------------|
| <i>Dimethyl Sulfoxide</i> |
|---------------------------|

|  |
|--|
| <b>6 . Accidental release measures</b> |
|--|

**Methods for cleaning up** : If emergency personnel are unavailable, contain spilled material. For small spills, add absorbent (soil may be used in the absence of other suitable materials) and use a non-sparking or explosion-proof means to transfer material to a sealable, appropriate container for disposal. For large spills, dike spilled material or otherwise contain material to ensure runoff does not reach a waterway. Place spilled material in an appropriate container for disposal.

|                                 |
|---------------------------------|
| <b>7 . Handling and storage</b> |
|---------------------------------|

**Handling** : Keep container closed. Use only with adequate ventilation. Keep away from heat, sparks and flame. To avoid fire or explosion, dissipate static electricity during transfer by grounding and bonding containers and equipment before transferring material. Use explosion-proof electrical (ventilating, lighting and material handling) equipment.

**Storage** : Store in a segregated and approved area. Keep container in a cool, well-ventilated area. Keep container tightly closed and sealed until ready for use. Avoid all possible sources of ignition (spark or flame).

|  |
|--|
| <b>8 . Exposure controls/personal protection</b> |
|--|

Consult local authorities for acceptable exposure limits.

**Engineering measures** : Use only with adequate ventilation. If user operations generate dust, fumes, vapor or mist, use process enclosures, local exhaust ventilation or other engineering controls to keep worker exposure to airborne contaminants below any recommended or statutory limits. The engineering controls also need to keep gas, vapor or dust concentrations below any lower explosive limits. Use explosion-proof ventilation equipment.

**Personal protection**

**Eyes** : Safety eyewear complying with an approved standard should be used when a risk assessment indicates this is necessary to avoid exposure to liquid splashes, mists, gases or dusts.

**Skin** : Personal protective equipment for the body should be selected based on the task being performed and the risks involved and should be approved by a specialist before handling this product.

**Respiratory** : Use a properly fitted, air-purifying or air-fed respirator complying with an approved standard if a risk assessment indicates this is necessary. Respirator selection must be based on known or anticipated exposure levels, the hazards of the product and the safe working limits of the selected respirator.

**Hands** : Chemical-resistant, impervious gloves complying with an approved standard should be worn at all times when handling chemical products if a risk assessment indicates this is necessary.

**Hygiene measures** : Wash hands, forearms and face thoroughly after handling chemical products, before eating, smoking and using the lavatory and at the end of the working period. Appropriate techniques should be used to remove potentially contaminated clothing. Wash contaminated clothing before reusing. Ensure that eyewash stations and safety showers are close to the workstation location.

|   |
|---|
| <b>9 . Physical and chemical properties</b> |
|---|

**Component** : Not available.

**Physical state** : Liquid.

**Flash point** : Closed cup: 87°C (188.6°F).

**Auto-ignition temperature** : 300 to 302°C (572 to 575.6°F)

**Flammable limits** : Lower: 1.8% Upper: 63%

**Color** : Clear Colorless.

**Molecular weight** : 78.1 g/mole

**Molecular formula** : C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS

**Boiling/condensation point** : 189°C (372.2°F)

**Melting/freezing point** : 18.5°C (65.3°F)

**Dimethyl Sulfoxide****9 . Physical and chemical properties**

|                         |                                      |
|-------------------------|--------------------------------------|
| <b>Relative density</b> | : 1.101 (Water = 1)                  |
| <b>Vapor pressure</b>   | : 0.08 kPa (0.6 mm Hg) (at 20°C)     |
| <b>Vapor density</b>    | : 2.7 (Air = 1)                      |
| <b>Evaporation rate</b> | : 0.026 compared with Butyl acetate. |
| <b>Viscosity</b>        | : Kinematic: 2.14 cSt                |

**10 . Stability and reactivity**

|  |   |
|--|---|
| <b>Stability and reactivity</b>                | : The product is stable.  |
| <b>Incompatibility with various substances</b> | : Reactive or incompatible with the following materials: oxidizing materials, reducing materials and acids.<br>Hygroscopic. Keep container tightly closed.  |
| <b>Hazardous polymerization</b>                | : Will not occur.   |
| <b>Conditions of reactivity</b>                | : Store under nitrogen.<br><br>Explosive in the presence of the following materials or conditions: open flames, sparks and static discharge and heat.<br>DMSO undergoes a violent exothermic reaction on mixing with copper wool and trichloroacetic acid. On mixing with potassium permanganate, it will flash instantaneously. It reacts violently with: acid halides, cyanuric chloride, silicon tetrachloride, phosphorus trichloride and trioxide, thionyl chloride, magnesium perchlorate, silver fluoride, methyl bromide, iodine pentafluoride, nitrogen periodate, diborane, sodium hydride, and perchloric and periodic acids. When heated above its boiling point methyl sulfoxide degrades giving off formaldehyde, methyl mercaptan, and sulfur dioxide. |

**11 . Toxicological information**Toxicity dataUnited States

| <u>Product/ingredient name</u> | <u>Test</u> | <u>Result</u> | <u>Route</u> | <u>Species</u> |
|--------------------------------|-------------|---------------|--------------|----------------|
| dimethyl sulfoxide             | LD50        | 14500 mg/kg   | Oral         | Rat            |
|                                | LD50        | 7920 mg/kg    | Oral         | Mouse          |
|                                | LD50        | >10000 mg/kg  | Oral         | Dog            |
|                                | LD50        | 50000 mg/kg   | Dermal       | Mouse          |

**Chronic effects on humans** : Causes damage to the following organs: skin, eyes, eye, lens or cornea.

**Other toxic effects on humans** : Hazardous in case of skin contact (irritant), of eye contact (irritant).

**Special remarks on other toxic effects on humans** : Avoid contact with DMSO solutions containing toxic materials or materials with unknown toxicological properties. Dimethyl Sulfoxide is readily absorbed through the skin and may carry materials into the body.

Prolonged or repeated exposure is carcinogenic, teratogenic and mutagenic.

Specific effects

**Carcinogenic effects** : No known significant effects or critical hazards.

**Mutagenic effects** : No known significant effects or critical hazards.

**Teratogenicity / Reproductive toxicity** : No known significant effects or critical hazards.

Sensitization

**Ingestion** : No known significant effects or critical hazards.

**Inhalation** : No known significant effects or critical hazards.

**Eyes** : Slightly irritating to the eyes.

**Skin** : Slightly irritating to the skin.

**Dimethyl Sulfoxide****12 . Ecological information**Ecotoxicity dataUnited StatesProduct/ingredient name

dimethyl sulfoxide

Species

Pimephales promelas (LC50)

Oncorhynchus mykiss (LC50)

Lepomis macrochirus (LC50)

Period

96 hour/hours

96 hour/hours

96 hour/hours

Result

34000 mg/l

35000 mg/l

&gt;400000 mg/l

**Environmental precautions** : No known significant effects or critical hazards.**Products of degradation** : These products are carbon oxides (CO, CO<sub>2</sub>) and water, sulfur oxides (SO<sub>2</sub>, SO<sub>3</sub> etc.).**Toxicity of the products of biodegradation** : The product itself and its products of degradation are not toxic.**13 . Disposal considerations****Waste disposal** : The generation of waste should be avoided or minimized wherever possible. Avoid dispersal of spilled material and runoff and contact with soil, waterways, drains and sewers. Disposal of this product, solutions and any by-products should at all times comply with the requirements of environmental protection and waste disposal legislation and any regional local authority requirements.**Disposal should be in accordance with applicable regional, national and local laws and regulations. Local regulations may be more stringent than regional or national requirements.**

The information presented below only applies to the material as supplied. The identification based on characteristic(s) or listing may not apply if the material has been used or otherwise contaminated. It is the responsibility of the waste generator to determine the toxicity and physical properties of the material generated to determine the proper waste identification and disposal methods in compliance with applicable regulations.

Refer to Section 7: HANDLING AND STORAGE and Section 8: EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION for additional handling information and protection of employees.

**14 . Transport information**

| Regulatory information    | UN number      | Proper shipping name | Class | PG* | Label | Additional information |
|---------------------------|----------------|----------------------|-------|-----|-------|------------------------|
| <b>DOT Classification</b> | Not regulated. | -                    | -     | -   |       | -                      |
| <b>TDG Classification</b> | Not regulated. | -                    | -     | -   |       | -                      |
| <b>ADR/RID Class</b>      | Not regulated. | -                    | -     | -   |       | -                      |
| <b>IATA-DGR Class</b>     | Not regulated. | -                    | -     | -   |       | -                      |

PG\* : Packing group

**15 . Regulatory information**United States**HCS Classification**: Combustible liquid  
Target organ effects**U.S. Federal regulations**

: TSCA 8(b) inventory: dimethyl sulfoxide

SARA 302/304/311/312 extremely hazardous substances: No products were found.

SARA 302/304 emergency planning and notification: No products were found.

SARA 302/304/311/312 hazardous chemicals: No products were found.

SARA 311/312 MSDS distribution - chemical inventory - hazard identification: No products were found.

Clean Water Act (CWA) 307: No products were found.

**Dimethyl Sulfoxide****15 . Regulatory information**

Clean Water Act (CWA) 311: No products were found.  
 Clean Air Act (CAA) 112 accidental release prevention: No products were found.  
 Clean Air Act (CAA) 112 regulated flammable substances: No products were found.  
 Clean Air Act (CAA) 112 regulated toxic substances: No products were found.

**State regulations** : Pennsylvania RTK: dimethyl sulfoxide  
 New Jersey: dimethyl sulfoxide

**Canada**

**WHMIS (Canada)** : Class D-2B: Material causing other toxic effects (Toxic).  
 CEPA DSL: dimethyl sulfoxide  
 CEPA NDSL: dimethyl sulfoxide

This product has been classified according to the hazard criteria of the CPR and the MSDS contains all the information required by the CPR.

**Mexico**

**Classification** :

**EU regulations**

**Hazard symbol/symbols** :

**Risk phrases** : R36/38- Irritating to eyes and skin.

**Safety phrases** : S24/25- Avoid contact with skin and eyes.  
 S26- In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.  
 S36- Wear suitable protective clothing.

**International regulations**

**International lists** : Australia (NICNAS): dimethyl sulfoxide  
 China: dimethyl sulfoxide  
 Germany water class: dimethyl sulfoxide  
 Japan (METI): dimethyl sulfoxide  
 Korea (TCCL): dimethyl sulfoxide  
 Philippines (RA6969): dimethyl sulfoxide

**16 . Other information**

**Label requirements** : CAUSES DAMAGE TO THE FOLLOWING ORGANS: SKIN, EYES, EYE, LENS OR CORNEA.  
 COMBUSTIBLE LIQUID AND VAPOR.  
 VAPOR MAY CAUSE FIRE.

**Hazardous Material Information System (U.S.A.)** :

|                     |   |   |
|---------------------|---|---|
| Health              | * | 1 |
| Fire hazard         |   | 2 |
| Reactivity          |   | 1 |
| Personal protection |   | C |

*Dimethyl Sulfoxide*

## 16 . Other information

National Fire Protection Association (U.S.A.) :



### Notice to reader

To the best of our knowledge, the information contained herein is accurate. However, neither the above-named supplier, nor any of its subsidiaries, assumes any liability whatsoever for the accuracy or completeness of the information contained herein.

Final determination of suitability of any material is the sole responsibility of the user. All materials may present unknown hazards and should be used with caution. Although certain hazards are described herein, we cannot guarantee that these are the only hazards that exist.

**ANEXO 2 – Testes de toxicidade com *Chironomus xanthus***



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste 1 - Avaliação da toxicidade para *Chironomus xanthus*.

|                                  |      |                          |                              |                            |  |  |  |             |
|----------------------------------|------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|--|--|--|-------------|
| Início do teste: 24/03/2009      |      |                          |                              | Final do teste: 28/03/2009 |  |  |  |             |
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |                          |                              | Substância de referência   |  |  |  | Responsável |
| Lote                             | pH   | OD (mg L <sup>-1</sup> ) | Cond. (μS cm <sup>-1</sup> ) | Triclosan                  |  |  |  |             |
| Reconstituída                    | 7,07 | 7,5                      | 31,5                         |                            |  |  |  | Fabio       |

| Concentração<br>(mg.Kg <sup>-1</sup> ) | Número de indivíduos imóveis/tubo                 |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | pH  |      | Cond.<br>(μS/cm) |     | OD (mg/L) |     |
|--|---|---|---|---|---|---|--------|---|---|----|-------|----|---|------|------------------|-----|-----------|-----|
|  | 96 horas  |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | ini   | fin  | ini              | fin | ini       | fin |
|  | 1   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7      | 8 | 9 | 10 | total | %  |   |      |                  |     |           |     |
| Controle                               | .   | . | . | + | . | . | .      | . | . | .  | 1     | 10 | 7,07  | 7,04 | 31,5             | 301 | 7,5       | 7,0 |
| 24,11                                  | +   | . | . | . | . | . | .      | + | . | .  | 2     | 20 | -   | 7,05 | -                | 312 | -         | 5,3 |
| 28,93                                  | .   | . | . | . | . | + | .      | . | . | .  | 1     | 10 | -   | 7,05 | -                | 307 | -         | 6,9 |
| 34,72                                  | .   | . | . | + | . | + | .      | . | + | .  | 3     | 30 | -   | 7,06 | -                | 310 | -         | 7,1 |
| 41,66                                  | +   | . | . | . | . | + | +      | . | + | +  | 5     | 50 | -   | 7,02 | -                | 331 | -         | 7,1 |
| 50,00                                  | +   | . | + | . | + | + | .      | + | + | +  | 7     | 70 | -   | 7,01 | -                | 314 | -         | 6,9 |
| DMSO                                   | .   | . | . | . | . | . | .      | . | . | .  | 0     | 0  | -   | 7,03 | -                | 299 | -         | 7,0 |
| Resultados                             | LC 96h: 41,66 (35,09 – 49,47) mg.kg <sup>-1</sup> |   |   |   |   |   | I. C.: |   |   |    |       |    | Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber |      |                  |     |           |     |

OBSERVAÇÕES:

---



---



---



---



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste 2 - Avaliação da toxicidade para *Chironomus xanthus*.

|                                  |      |                          |                              |                            |  |  |  |             |
|----------------------------------|------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|--|--|--|-------------|
| Início do teste: 01/04/2009      |      |                          |                              | Final do teste: 05/04/2009 |  |  |  |             |
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |                          |                              | Substância de referência   |  |  |  | Responsável |
| Lote                             | pH   | OD (mg L <sup>-1</sup> ) | Cond. (μS cm <sup>-1</sup> ) | Triclosan                  |  |  |  |             |
| Reconstituída                    | 7,06 | 8,4                      | 39,4                         |                            |  |  |  | Fabio       |

| Concentração<br>(mg.Kg <sup>-1</sup> ) | Número de indivíduos imóveis/tubo |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | pH  |      | Cond.<br>(μS/cm) |     | OD (mg/L) |     |
|--|-----------------------------------|---|---|---|---|---|--------|---|---|----|-------|----|---|------|------------------|-----|-----------|-----|
|  | 96 horas                          |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | ini   | fin  | ini              | fin | ini       | fin |
|  | 1                                 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7      | 8 | 9 | 10 | total | %  |   |      |                  |     |           |     |
| Controle                               | .                                 | + | . | . | . | . | .      | . | . | .  | 1     | 10 | 7,06  | 6,96 | 39,4             | 288 | 8,4       | 6,6 |
| 24,11                                  | .                                 | . | . | . | . | + | .      | . | + | .  | 2     | 20 | -   | 7,00 | -                | 299 | -         | 6,0 |
| 28,93                                  | .                                 | . | . | . | . | . | .      | . | . | .  | 0     | 0  | -   | 7,02 | -                | 305 | -         | 6,5 |
| 34,72                                  | .                                 | . | . | . | . | + | .      | + | . | .  | 2     | 20 | -   | 7,01 | -                | 315 | -         | 6,4 |
| 41,66                                  | .                                 | . | + | + | . | + | .      | . | . | .  | 3     | 30 | -   | 7,05 | -                | 308 | -         | 6,6 |
| 50,00                                  | +                                 | + | . | + | . | . | +      | + | . | .  | 5     | 50 | -   | 7,06 | -                | 300 | -         | 7,1 |
| DMSO                                   | .                                 | . | . | + | . | . | .      | . | . | .  | 1     | 10 | -   | 7,00 | -                | 307 | -         | 6,8 |
| Resultados                             | LC 96h: 50,00 mg.kg <sup>-1</sup> |   |   |   |   |   | I. C.: |   |   |    |       |    | Método estatístico utilizado: Spearman-Kärber |      |                  |     |           |     |

OBSERVAÇÕES:

---



---



---



---



LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

Teste 3 - Avaliação da toxicidade para *Chironomus xanthus*.

|                                  |      |                          |                              |                            |  |  |  |             |
|----------------------------------|------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|--|--|--|-------------|
| Início do teste: 04/04/2009      |      |                          |                              | Final do teste: 08/04/2009 |  |  |  |             |
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |                          |                              | Substância de referência   |  |  |  | Responsável |
| Lote                             | pH   | OD (mg L <sup>-1</sup> ) | Cond. (μS cm <sup>-1</sup> ) | Triclosan                  |  |  |  |             |
| Reconstituída                    | 7,01 | 7,5                      | 39,2                         |                            |  |  |  | Fabio       |

| Concentração<br>(mg.kg <sup>-1</sup> ) | Número de indivíduos imóveis/tubo                 |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | pH  |      | Cond.<br>(μS/cm) |     | OD (mg/L) |     |
|--|---|---|---|---|---|---|--------|---|---|----|-------|----|---|------|------------------|-----|-----------|-----|
|  | 96 horas  |   |   |   |   |   |        |   |   |    |       |    | ini   | fin  | ini              | fin | ini       | fin |
|  | 1   | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7      | 8 | 9 | 10 | total | %  |   |      |                  |     |           |     |
| Controle                               | .   | . | . | + | . | . | .      | . | . | .  | 1     | 10 | 7,01  | 7,10 | 39,2             | 341 | 7,5       | 3,3 |
| 24,11                                  | +   | + | . | . | . | . | .      | . | . | .  | 2     | 20 | -   | 7,03 | -                | 363 | -         | 3,4 |
| 28,93                                  | .   | . | . | . | . | . | +      | . | . | .  | 1     | 10 | -   | 7,01 | -                | 358 | -         | 3,4 |
| 34,72                                  | .   | . | . | . | . | + | +      | . | . | .  | 2     | 20 | -   | 6,96 | -                | 361 | -         | 2,4 |
| 41,66                                  | .   | . | . | + | . | . | +      | + | . | +  | 4     | 40 | -   | 7,02 | -                | 349 | -         | 3,8 |
| 50,00                                  | .   | + | + | . | + | + | +      | + | . | +  | 7     | 70 | -   | 7,00 | -                | 332 | -         | 4,2 |
| DMSO                                   | .   | . | . | . | . | . | .      | . | . | .  | 0     | 0  | -   | 7,03 | -                | 335 | -         | 3,8 |
| Resultados                             | LC 96h: 44,11 (37,11 – 52,42) mg.kg <sup>-1</sup> |   |   |   |   |   | I. C.: |   |   |    |       |    | Método estatístico utilizado: Spearman-karber |      |                  |     |           |     |

OBSERVAÇÕES:

---



---



---



---

**ANEXO 3 – Testes de toxicidade com *C. dubia* no  
sedimento**

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 1

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009 |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|---|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |   | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |   | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle            |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5 | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,39 | 8,1       | 6,4 | 137,1           | 217,0 | 14/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,05                             | 7,00 | 7,5       | 8,0 | 131,3           | 156,8 | 16/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 6,93 | 8,3       | 6,7 | 133,3           | 160,2 | 18/fev | .                          | .  | 1  | 1  | . | 1         | 3  | 1  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | 7                          | 7  | 9  | 7  | 3 | 7         | 7  | 8  | 9  | 9  | 10   |
| 7,05                             | 7,02 | 8,3       | 8,1 | 130,3           | 156,7 | 20/fev | 9                          | 6  | 12 | 9  | 1 | 11        | 9  | 7  | 8  | 5  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | 9                          | 9  | 9  | 10 | . | .         | 9  | .  | 9  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 25                         | 22 | 31 | 27 | 4 | 19        | 28 | 16 | 26 | 14 | 21,2 |

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009 |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|---|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |   | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |   | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle + DMSO     |    |    |    |   |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5 | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,48 | 8,1       | 6,4 | 137,1           | 219,0 | 14/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,05                             | 6,90 | 7,5       | 7,9 | 131,3           | 164,0 | 16/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                          | .  | .  | .  | . | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 6,88 | 8,3       | 6,6 | 133,3           | 161,4 | 18/fev | 1                          | 2  | 1  | 2  | 3 | 3         | 3  | 5  | 3  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | 7                          | 6  | 7  | 7  | . | 6         | 5  | 6  | 7  | 8  | 10   |
| 7,05                             | 7,00 | 8,3       | 8,1 | 130,3           | 158,3 | 20/fev | 5                          | 11 | 7  | 3  | . | 6         | .  | .  | .  | 5  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | 8                          | 8  | .  | .  | 5 | .         | 5  | 7  | 8  | 7  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 21                         | 27 | 15 | 12 | 8 | 15        | 13 | 18 | 18 | 22 | 16,9 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 1

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 4,82 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,44 | 8,1       | 6,4 | 137,1           | 217,0 | 14/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,05                             | 7,00 | 7,5       | 7,9 | 131,3           | 166,7 | 16/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 6,97 | 8,3       | 6,6 | 133,3           | 161,5 | 18/fev | 1                              | 3  | 3  | 4  | 2  | 1         | 3  | 1  | 2  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | 8                              | 6  | .  | .  | 8  | 7         | 4  | 8  | 7  | 4  | 10   |
| 7,05                             | 7,03 | 8,3       | 8,1 | 130,3           | 156,2 | 20/fev | 2                              | 5  | 5  | 5  | 7  | 6         | 6  | .  | 6  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | 7                              | .  | 4  | 6  | .  | .         | 7  | 4  | .  | 10 | 10   |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 18                             | 14 | 12 | 15 | 17 | 14        | 20 | 13 | 15 | 16 | 15,4 |

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009     |    |    |    |    |           |    |    |   |    |       |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|---|----|-------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |   |    |       |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |   |    |       |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |   |    |       |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 5,78 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |   |    |       |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9 | 10 | Vivo  |
| 7,04                             | 7,49 | 8,1       | 6,2 | 137,1           | 214,0 | 14/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | . | .  | 10    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | . | .  | 10    |
| 7,05                             | 6,96 | 7,5       | 8,0 | 131,3           | 161,2 | 16/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | . | .  | 10    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | + | .  | 9     |
| 7,12                             | 7,04 | 8,3       | 6,7 | 133,3           | 157,2 | 18/fev | 3                              | 2  | 4  | 2  | 3  | 1         | .  | .  | . | 1  | 9     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | 6                              | 6  | 8  | 7  | 8  | 7         | 7  | 7  | . | 8  | 9     |
| 7,05                             | 6,98 | 8,3       | 8,1 | 130,3           | 156,8 | 20/fev | .                              | 7  | .  | 8+ | 7  | 8         | 10 | 8  | . | 7  | 9     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | 4                              | .  | 7  | .  | .  | 1         | 9  | .  | . | .  | 9     |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 13                             | 15 | 19 | 17 | 18 | 15        | 18 | 24 | 0 | 16 | 15,55 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 1

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009     |   |   |    |   |           |    |   |    |    |       |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|---|---|----|---|-----------|----|---|----|----|-------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |   |   |    |   |           |    |   |    |    |       |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |   |   |    |   | Tipo      |    |   |    |    |       |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |   |   |    |   | Sedimento |    |   |    |    |       |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 6,94 mg.L <sup>-1</sup> |   |   |    |   |           |    |   |    |    |       |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2 | 3 | 4  | 5 | 6         | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo  |
| 7,04                             | 7,48 | 8,1       | 6,3 | 137,1           | 216,0 | 14/fev | .                              | . | . | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                              | . | . | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10    |
| 7,05                             | 7,07 | 7,5       | 7,8 | 131,3           | 167,3 | 16/fev | .                              | . | + | .  | + | .         | .  | . | .  | .  | 8     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                              | + | . | .  | + | .         | .  | . | .  | .  | 6     |
| 7,12                             | 6,96 | 8,3       | 6,8 | 133,3           | 160,8 | 18/fev | 4                              | . | . | 4  | . | .         | 4  | . | 3  | 4  | 6     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | .                              | . | . | 2  | . | .         | 6  | 2 | .  | 6  | 6     |
| 7,05                             | 7,03 | 8,3       | 8,1 | 130,3           | 157,3 | 20/fev | 2                              | . | . | 2  | . | .         | .  | . | 4  | .  | 6     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | .                              | . | . | 7  | . | .         | 6  | 5 | 5  | 8  | 6     |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 6                              | 0 | 0 | 15 | 0 | 0         | 16 | 7 | 12 | 14 | 8,933 |

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009     |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|---|---|---|---|-----------|---|---|---|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |   |   |   |   | Tipo      |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |   |   |   |   | Sedimento |   |   |   |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 8,33 mg.L <sup>-1</sup> |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2 | 3 | 4 | 5 | 6         | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,49 | 8,1       | 6,3 | 137,1           | 219,0 | 14/fev | .                              | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                              | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,05                             | 7,15 | 7,5       | -   | 131,3           | 156,3 | 16/fev | .                              | + | + | . | + | .         | + | + | + | +  | 3    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 17/fev | .                              | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| 7,12                             | 7,15 | 8,3       | -   | 133,3           | 164,3 | 18/fev | .                              | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 19/fev | 2                              | . | . | 2 | . | 3         | . | . | . | .  | 3    |
| 7,05                             | 7,02 | 8,3       | -   | 130,3           | 160,2 | 20/fev | 1                              | . | . | 3 | . | 4         | . | . | . | .  | 3    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 21/fev | .                              | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 3                              | . | . | 5 | . | 7         | . | . | . | .  | 5    |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 1

| Início do teste: 14/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 21/02/2009   |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|------------------------------|---|---|---|---|-----------|---|---|---|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                      |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                       |   |   |   |   | Tipo      |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                    |   |   |   |   | Sedimento |   |   |   |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 10 mg.L <sup>-1</sup> |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6         | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,50 | 8,1       | 6,3 | 137,1           | 223,0 | 14/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 15/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 16/fev | +                            | + | + | + | + | +         | + | + | + | +  | 0    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 17/fev |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       | 18/fev |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/fev |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       | 20/fev |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       | 21/fev |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  |                              |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – 2

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009 |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle            |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,28 | 8,3       | 7,1 | 133,3           | 208,0 | 19/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,24 | 7,1       | -   | 133,6           | 179,8 | 21/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                          | 2  | .  | .  | 3  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,15                             | 7,09 | -         | 6,7 | 152,4           | 171,8 | 23/fev | 3                          | 6  | 1  | 5  | 7  | +         | 4  | 1  | 1  | 3  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | 7                          | .  | 6  | 7  | .  | .         | 8  | 7  | 2  | 8  | 9    |
| 7,14                             | 7,15 | 7,6       | 6,6 | 145,5           | 163,0 | 25/fev | 4                          | 7  | 5  | 6  | 9  | .         | 8  | 8  | .  | 6  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | 7                          | 9  | 5  | 7  | .  | .         | 8  | 8  | 9  | 7  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 21                         | 24 | 17 | 25 | 19 | 0         | 28 | 24 | 12 | 24 | 19,4 |

## Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 2

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009 |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle + DMSO     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,07 | 8,3       | 7,1 | 133,3           | 223,0 | 19/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,21 | 7,1       | -   | 133,6           | 192,2 | 21/fev | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                          | .  | .  | 1  | .  | .         | .  | 3  | .  | .  | 10   |
| 7,15                             | 7,02 | -         | 6,8 | 152,4           | 178,2 | 23/fev | 1                          | 2  | 1  | 2  | 2  | 1         | 3  | .  | 4  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | 3                          | 6  | 6  | 7  | 7  | 7         | 7  | 6  | 4  | 7  | 10   |
| 7,14                             | 6,95 | 7,6       | 6,6 | 145,5           | 171,2 | 25/fev | 4                          | .  | 3  | 6  | 5  | 5         | .  | 5  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | 7                          | 8  | 4  | 5  | .  | 8         | 8  | 7  | 9  | 9  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 15                         | 16 | 14 | 21 | 14 | 21        | 18 | 21 | 17 | 18 | 17,5 |

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 4,82 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,14 | 8,3       | 7,1 | 133,3           | 232,0 | 19/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,26 | 7,1       | -   | 133,6           | 200,0 | 21/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,15                             | 7,03 | -         | 6,9 | 152,4           | 179,2 | 23/fev | 4                              | 2  | 1  | 4  | 4  | 4         | 1  | 3  | 4  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | 4                              | .  | 4  | 6  | 8  | .         | .  | 7  | 7  | 6  | 10   |
| 7,14                             | 6,93 | 7,6       | 6,4 | 145,5           | 173,2 | 25/fev | 6                              | 4  | 6  | 7  | 8  | 5         | 5  | 6  | 8  | 6  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | 6                              | 6  | 7  | 8  | 8  | 5         | 5  | .  | .  | 7  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 20                             | 12 | 18 | 25 | 28 | 14        | 11 | 16 | 19 | 23 | 18,6 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 2

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 5,78 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,13 | 8,3       | 7,0 | 133,3           | 228,0 | 19/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,20 | 7,1       | -   | 133,6           | 195,0 | 21/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,15                             | 7,14 | -         | 6,9 | 152,4           | 176,4 | 23/fev | 3                              | 2  | 4  | 3  | 4  | 1         | 3  | 4  | 4  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | 10                             | .  | .  | 5  | 6  | 5         | .  | 6  | .  | 7  | 10   |
| 7,14                             | 6,95 | 7,6       | 6,5 | 145,5           | 169,0 | 25/fev | 6                              | 4  | 5  | .  | .  | 4         | 5  | 4  | 8  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | .                              | 4  | 7  | 7  | 6  | .         | 8  | 5  | 8+ | 7  | 9    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 19                             | 10 | 16 | 15 | 16 | 10        | 16 | 19 | 20 | 18 | 15,9 |

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009     |   |    |    |   |           |    |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|---|----|----|---|-----------|----|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |   |    |    |   |           |    |   |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |   |    |    |   | Tipo      |    |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |   |    |    |   | Sedimento |    |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 6,94 mg.L <sup>-1</sup> |   |    |    |   |           |    |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2 | 3  | 4  | 5 | 6         | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,16 | 8,3       | 7,0 | 133,3           | 228,0 | 19/fev | .                              | . | .  | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                              | . | .  | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,22 | 7,1       | -   | 133,6           | 196,0 | 21/fev | .                              | . | .  | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                              | . | .  | .  | . | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,15                             | 7,08 | -         | 6,9 | 152,4           | 175,4 | 23/fev | 3                              | . | 4  | .  | 4 | .         | 3  | 3 | 3  | 3+ | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | .                              | . | 5  | 2  | 4 | 2         | .  | . | 6  | .  | 9    |
| 7,14                             | 6,92 | 7,6       | 6,5 | 145,5           | 172,8 | 25/fev | .                              | 2 | .  | 4  | + | 4         | 6  | 1 | 5  | .  | 8    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | 1                              | . | 5  | 5  | . | 6         | 6  | 4 | .  | .  | 8    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 4                              | 2 | 14 | 11 | 8 | 12        | 15 | 8 | 14 | 3  | 9,1  |

## Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 2

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009     |    |    |   |    |           |   |   |   |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|---|----|-----------|---|---|---|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |   |    |           |   |   |   |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |   |    | Tipo      |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |   |    | Sedimento |   |   |   |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 8,33 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |   |    |           |   |   |   |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4 | 5  | 6         | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,19 | 8,3       | 7,0 | 133,3           | 224,0 | 19/fev | .                              | .  | .  | . | .  | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                              | .  | .  | . | .  | .         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,21 | 7,1       | -   | 133,6           | 192,9 | 21/fev | .                              | .  | .  | + | .  | .         | . | . | . | .  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                              | .  | .  | . | .  | .         | . | . | . | .  | 9    |
| 7,15                             | 7,05 | -         | 6,9 | 152,4           | 173,9 | 23/fev | 4                              | 3  | 4  | . | .  | 3         | . | . | . | .  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | .                              | 4  | .  | . | 4  | .         | 3 | 3 | 3 | 1  | 9    |
| 7,14                             | 6,99 | 7,6       | 6,6 | 145,5           | 167,3 | 25/fev | 2                              | .  | 2  | . | 4  | 5         | 3 | 4 | 2 | .  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | 3                              | 5  | 4  | . | 6  | 7         | . | . | . | 2  | 9    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 9                              | 12 | 10 | 0 | 14 | 15        | 6 | 7 | 5 | 3  | 8,1  |

| Início do teste: 19/02/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 26/02/2009   |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|------------------------------|---|---|---|---|-----------|---|---|---|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                      |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                       |   |   |   |   | Tipo      |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                    |   |   |   |   | Sedimento |   |   |   |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 10 mg.L <sup>-1</sup> |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6         | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,17 | 8,3       | 6,9 | 133,3           | 233,0 | 19/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 20/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,32 | 7,1       | -   | 133,6           | 196,7 | 21/fev | +                            | . | . | + | + | .         | . | . | + | .  | 6    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 22/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 6    |
| 7,15                             | 7,21 | -         | -   | 152,4           | 169,5 | 23/fev | .                            | + | . | . | . | 2         | + | + | . | 2  | 3    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 24/fev | .                            | . | 2 | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| 7,14                             | 7,08 | 7,6       | -   | 145,5           | 156,2 | 25/fev | .                            | . | 2 | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 26/fev | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 3    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 0                            | 0 | 4 | 0 | 0 | 2         | 0 | 0 | 0 | 2  | 0,8  |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 3

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009 |    |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|----|-----------|----|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |    | Tipo      |    |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |    | Sedimento |    |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle            |    |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,25 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 310,0 | 06/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,03 | 7,6       | 7,1 | 123,5           | 186,6 | 08/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,01 | 7,3       | 7,4 | 130,1           | 145,6 | 10/mar | .                          | 1  | 3  | 4  | 2  | 1         | 4  | 3 | 3  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | 4                          | .  | .  | .  | .  | 5         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,10 | 7,5       | 7,2 | 130,0           | 146,2 | 12/mar | 11                         | 5  | 4  | 6  | 7  | 6         | 5  | 6 | 7  | 6  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 9                          | 4  | 9  | 8  | 9  | 1         | 7  | . | 7  | 5  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 24                         | 10 | 16 | 18 | 18 | 13        | 16 | 9 | 17 | 15 | 15,6 |

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009 |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                    |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                     |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                  |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle + DMSO     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                          | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,32 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 320,0 | 06/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,00 | 7,6       | 7,0 | 123,5           | 189,7 | 08/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,03 | 7,3       | 7,1 | 130,1           | 153,6 | 10/mar | .                          | 2  | 2  | 3  | 1  | 1         | 2  | .  | 2  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | .                          | .  | .  | .  | .  | .         | .  | 3  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,11 | 7,5       | 7,2 | 130,0           | 147,9 | 12/mar | 3                          | 5  | 4  | 6  | 4  | 4         | 5  | 5  | 5  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 3                          | 8  | 6  | 9  | 7  | 6         | 6  | 7  | 11 | 8  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 6                          | 15 | 13 | 18 | 12 | 11        | 13 | 15 | 18 | 14 | 13,5 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 3

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 4,82 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,33 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 319,0 | 06/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 6,94 | 7,6       | 6,6 | 123,5           | 196,5 | 08/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,05 | 7,3       | 6,8 | 130,1           | 160,2 | 10/mar | 2                              | 4  | 2  | 2  | 2  | 1         | 3  | 2  | 2  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,15 | 7,5       | 7,3 | 130,0           | 151,2 | 12/mar | 6                              | 6  | 8  | 3  | 4  | 4         | 6  | 7  | 5  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 8                              | 6  | 6  | 6  | 7  | 7         | 7  | 7  | 6  | .  | 10   |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 16                             | 16 | 16 | 18 | 13 | 12        | 16 | 16 | 13 | 6  | 14,2 |

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009     |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 5,78 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,31 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 330,0 | 06/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 6,95 | 7,6       | 7,0 | 123,5           | 191,2 | 08/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,20 | 7,3       | 7,1 | 130,1           | 155,8 | 10/mar | .                              | .  | 1  | 2  | 1  | 2         | 2  | 2  | 2  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | 3                              | 3  | 4  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | 3  | 10   |
| 7,02                             | 7,05 | 7,5       | 7,1 | 130,0           | 149,7 | 12/mar | 4                              | 4  | 6  | 3  | 4  | 4         | 5  | 6  | 4  | 4  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 4                              | 6  | 5  | 7  | 7  | 7         | 8  | 6  | 8  | 8  | 10   |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 11                             | 13 | 16 | 12 | 12 | 13        | 15 | 14 | 14 | 15 | 13,5 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 3

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009     |    |    |    |    |           |   |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|----|----|----|-----------|---|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |    |    |    |           |   |   |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |    |    |    | Tipo      |   |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |    |    |    | Sedimento |   |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 6,94 mg.L <sup>-1</sup> |    |    |    |    |           |   |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3  | 4  | 5  | 6         | 7 | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,36 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 331,0 | 06/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 6,99 | 7,6       | 7,1 | 123,5           | 189,5 | 08/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                              | .  | .  | .  | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,22 | 7,3       | 7,2 | 130,1           | 154,5 | 10/mar | 2                              | 2  | 1  | 2  | 1  | 2         | . | . | 2  | 1  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | +                              | .  | .  | .  | .  | .         | . | 2 | .  | 3  | 9    |
| 7,02                             | 7,08 | 7,5       | 7,2 | 130,0           | 148,9 | 12/mar | .                              | 3  | 4  | 3  | 4  | 6         | 3 | 6 | 5  | 7  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | .                              | 6  | 8  | 7  | 5  | 4         | 6 | . | 3  | .  | 9    |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 2                              | 11 | 13 | 12 | 10 | 12        | 9 | 8 | 10 | 11 | 9,8  |

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009     |    |   |    |   |           |   |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------------------|----|---|----|---|-----------|---|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                        |    |   |    |   |           |   |    |    |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                         |    |   |    |   | Tipo      |   |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                      |    |   |    |   | Sedimento |   |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 8,33 mg.L <sup>-1</sup> |    |   |    |   |           |   |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                              | 2  | 3 | 4  | 5 | 6         | 7 | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,29 | 6,8       | 7,4 | 123,0           | 333,0 | 06/mar | .                              | .  | . | .  | . | .         | . | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                              | .  | . | .  | . | .         | . | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 6,98 | 7,6       | 7,1 | 123,5           | 198,0 | 08/mar | .                              | .  | . | .  | . | .         | . | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                              | .  | . | .  | . | .         | . | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,23 | 7,3       | 7,0 | 130,1           | 160,0 | 10/mar | 1                              | 1  | . | 2  | 2 | 2         | 1 | 1  | 2  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | .                              | .  | . | .  | . | .         | . | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,13 | 7,5       | 7,2 | 130,0           | 151,2 | 12/mar | 2                              | 4  | 3 | 4  | 3 | 3         | 3 | 4  | 4  | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 4                              | 6  | . | 4  | 4 | 4         | 5 | 7  | 4  | .  | 10   |
| Total                            |      |           |     |                 |       |        | 7                              | 11 | 3 | 10 | 9 | 9         | 9 | 12 | 10 | 2  | 8,2  |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em sedimento – Teste 3

| Início do teste: 06/03/2009      |      |           |     |                 |       |        | Final do teste: 13/03/2009   |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|------------------------------|---|---|---|---|-----------|---|---|---|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra                      |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| Lote: 45                         |      |           |     |                 |       |        | Origem                       |   |   |   |   | Tipo      |   |   |   |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Triclosan                    |   |   |   |   | Sedimento |   |   |   |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: 10 mg.L <sup>-1</sup> |   |   |   |   |           |   |   |   |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6         | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo |
| 7,13                             | 7,27 | 6,8       | 7,5 | 123,0           | 318,0 | 06/mar | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 07/mar | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,08                             | 6,94 | 7,6       | 7,0 | 123,5           | 186,4 | 08/mar | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/mar | .                            | . | . | . | . | .         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,34 | 7,3       | 7,2 | 130,1           | 151,6 | 10/mar | .                            | . | 1 | 1 | 1 | .         | . | 1 | . | 1  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 11/mar | .                            | . | . | . | . | 2         | . | . | . | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,15 | 7,5       | 7,0 | 130,0           | 149,8 | 12/mar | 4                            | 3 | 4 | 4 | 3 | 4         | 3 | 3 | 4 | 2  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 13/mar | 3                            | 3 | 2 | 4 | 5 | 2         | 5 | 3 | 4 | 4  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 7                            | 6 | 7 | 9 | 9 | 8         | 8 | 7 | 8 | 7  | 7,6  |

**ANEXO 4 – Testes de toxicidade com *C. dubia* em água com ração.**

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com ração – Teste 1

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: Controle    |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,04                             | 7,19 | -         | -   | 144,8           | 140,8 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,05                             | 7,10 | -         | -   | 137,3           | 139,0 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,50 | -         | -   | 135,8           | 141,4 | 01/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,09                             | 7,61 | -         | -   | 136,2           | 142,3 | 02/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,09                             | 7,08 | -         | -   | 139,2           | 141,7 | 03/07 | 2                  | 2                          | 4  | 4  | 3  | 3           | 2  | 3  | 4  | 4  | 10   |
| 6,98                             | 7,12 | -         | -   | 138,6           | 155,1 | 04/07 | 9                  | 7                          | 8  | .  | 9  | 6           | 5  | 8  | 7  | 8  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 | .                  | .                          | .  | 9  | .  | .           | 12 | .  | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 | 14                 | 15                         | 10 | 14 | 11 | 13          | .  | 11 | 11 | 14 | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 25                 | 24                         | 22 | 27 | 23 | 22          | 19 | 22 | 22 | 26 | 23,2 |

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: A - 0,005%  |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,12                             | 7,22 | -         | -   | 137,3           | 137,8 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,10                             | 7,25 | -         | -   | 150,1           | 149,8 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,44 | -         | -   | 145,9           | 149,3 | 01/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,62 | -         | -   | 143,8           | 147,4 | 02/07 | .                  | 4                          | 4  | .  | .  | 4           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,10                             | 7,18 | -         | -   | 139,7           | 142,4 | 03/07 | 3                  | .                          | .  | 4  | 4  | 1           | 2  | 3  | 4  | 2  | 10   |
| 6,95                             | 7,20 | -         | -   | 152,2           | 159,9 | 04/07 | 7                  | 7                          | 4  | 2  | 7  | 7           | 4  | 7  | 8  | 8  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 | 5                  | 13                         | 10 | 3  | .  | 13          | 14 | 12 | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 | .                  | .                          | .  | 16 | 12 | .           | .  | 13 | .  | 12 | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 15                 | 24                         | 18 | 25 | 23 | 25          | 20 | 35 | 12 | 22 | 21,9 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com ração – Teste 1

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: B - 0,01%   |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,10                             | 7,22 | -         | -   | 137,2           | 140,2 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,25                             | 7,30 | -         | -   | 139,0           | 149,0 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 7,60 | -         | -   | 144,8           | 145,9 | 01/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,69 | -         | -   | 138,9           | 147,7 | 02/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,21 | -         | -   | 1139,5          | 142,7 | 03/07 | 4                  | 4                          | 4  | 4  | 3  | 3           | 5  | 1  | 4  | 4  | 10   |
| 6,95                             | 7,15 | -         | -   | 152,4           | 162,4 | 04/07 | 7                  | 7                          | 6  | 7  | 7  | 4           | .  | 7  | 8  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 | 13                 | 10                         | 13 | 13 | 15 | 10          | 11 | .  | 9  | 9  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | 14 | 10 | .  | 13 | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 24                 | 21                         | 23 | 24 | 25 | 17          | 30 | 18 | 21 | 26 | 22,9 |

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: C - 0,02%   |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,10                             | 7,26 | -         | -   | 136,8           | 141,0 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,26                             | 7,34 | -         | -   | 139,1           | 144,5 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,10                             | 7,56 | -         | -   | 145,2           | 151,2 | 01/07 | +                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 9    |
| 7,02                             | 7,68 | -         | -   | 138,1           | 146,8 | 02/07 |                    | .                          | .  | .  | .  | .           | 2  | .  | 4  | 4  | 9    |
| 7,09                             | 7,19 | -         | -   | 139,4           | 142,9 | 03/07 |                    | .                          | 6  | 3  | 4  | .           | 3  | 3  | .  | .  | 9    |
| 6,95                             | 7,07 | -         | -   | 152,4           | 161,3 | 04/07 |                    | 6                          | .  | .  | 4  | 8           | 6  | 8  | 8  | 9  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 |                    | 12                         | 9  | 10 | .  | 10          | 11 | .  | 11 | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 |                    | .                          | 18 | 10 | 12 | .           | .  | 16 | .  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total |                    | 18                         | 33 | 23 | 30 | 18          | 22 | 27 | 23 | 12 | 22,7 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com razão – Teste 1

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: D - 0,04%   |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,09                             | 7,27 | -         | -   | 136,9           | 140,8 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,29                             | 7,19 | -         | -   | 139,2           | 140,0 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,10                             | 7,58 | -         | -   | 142,9           | 146,2 | 01/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,99                             | 7,66 | -         | -   | 138,4           | 145,6 | 02/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,09                             | 7,20 | -         | -   | 138,8           | 141,2 | 03/07 | 3                  | 3                          | 4  | 4  | 2  | 5           | .  | 2  | 3  | 2  | 10   |
| 6,91                             | 7,08 | -         | -   | 152,2           | 163,5 | 04/07 | 6                  | 4                          | 7  | .  | 6  | .           | 3  | .  | 6  | 6  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 | 10                 | 8                          | .  | 7  | 9  | 8           | 5  | 10 | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 | 13                 | .                          | 11 | .  | .  | 10          | 10 | 13 | 12 | 6  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 32                 | 15                         | 22 | 11 | 17 | 23          | 18 | 25 | 21 | 14 | 19,8 |

| Início do teste: 29/06/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |       |                    | Final do teste: 06/07/2007 |    |    |    | Hora: 11:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: E - 0,08%   |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,07                             | 7,32 | -         | -   | 136,7           | 140,8 | 29/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,32                             | 7,29 | -         | -   | 139,1           | 142,9 | 30/06 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,22                             | 7,58 | -         | -   | 144,0           | 147,5 | 01/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,98                             | 7,68 | -         | -   | 138,2           | 145,9 | 02/07 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,14                             | 7,21 | -         | -   | 138,6           | 141,0 | 03/07 | 2                  | 1                          | 3+ | 4  | 1+ | 4           | 2  | 2  | 2  | 3  | 8    |
| 6,93                             | 7,07 | -         | -   | 151,9           | 161,2 | 04/07 | 4                  | 6                          |    | 10 |    | 8           | 7  | 6  | 7  | 7  | 8    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 05/07 | .                  | .                          |    | .  |    | 10          | 8  | .  | .  | 9  | 8    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 06/07 | 13                 | 12                         |    | 12 |    | .           | .  | 11 | 9  | .  | 8    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 19                 | 19                         | 3  | 26 | 1  | 22          | 17 | 19 | 18 | 19 | 16,2 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com razão – Teste 2

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                    | Final do teste: 13/12/2007 |    |    |    | Hora: 15:30 |    |    |    |    |       |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|-------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |       |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |       |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |       |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: Controle    |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |       |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo  |
| 7,08                             | 7,64 | 7,7       | 7,0 | 140,9           | 152,6 | 05/12 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10    |
| 7,04                             | 7,08 | 7,6       | -   | 134,2           | -     | 06/12 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | +  | 9     |
| 7,04                             | -    | --        | -   | 140,0           | -     | 07/12 | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 9     |
| -                                | 6,89 | -         | -   | -               | 152,3 | 09/12 | 2                  | 2                          | 4  | 2  | 2  | 2           | 4  | 2  | 2  | .  | 9     |
| 7,06                             | -    | -         | -   | -               | -     | 10/12 | 14                 | 5                          | 5  | 7  | 5  | 6           | 10 | 5  | 6  | .  | 9     |
| 7,07                             | -    | -         | -   | 144,5           | -     | 11/12 | .                  | .                          | .  | .  | 3  | .           | .  | .  | .  | .  | 9     |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | 2                  | 6                          | 2  | .  | 2  | 2           | .  | .  | 1  | .  | 9     |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | .                  | 5                          | 3  | 8  | .  | 2           | 5  | 8  | 3  | .  | 9     |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 18                 | 18                         | 14 | 17 | 12 | 12          | 19 | 15 | 12 | .  | 15,22 |

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                                | Final do teste: 13/12/2007 |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------------------|----------------------------|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra                        |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem                         |                            |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química             |                            |    |    |    | Triclosan |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: 0,01 mg.L <sup>-1</sup> |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                              | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,07                             | 7,54 | 8,3       | 7,1 | 139,4           | 155,0 | 05/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,10                             | 7,08 | 7,6       | -   | 133,9           | 137,3 | 06/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,00                             | -    | -         | -   | 139,1           | -     | 07/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | 6,92 | -         | -   | -               | 154,8 | 09/12 | 5                              | 3                          | 4  | 2  | 4  | 2         | 3  | 4  | 4  | 2  | 10   |
| 7,02                             | 7,57 | -         | -   | 145,3           | 156,1 | 10/12 | .                              | 2                          | 7  | .  | .  | 8         | 7  | 5  | 7  | 6  | 10   |
| 7,28                             | 7,05 | -         | -   | 145,3           | 144,4 | 11/12 | 9                              | 7                          | .  | 7  | 8  | .         | .  | .  | 1  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | 1                              | 1                          | 8  | 1  | 2  | 2         | 2  | 4  | .  | 5  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 15                             | 13                         | 19 | 10 | 14 | 12        | 12 | 13 | 12 | 13 | 13,3 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com ração – Teste 2

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                                | Final do teste: 13/12/2007 |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------------------|----------------------------|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra                        |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem                         |                            |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química             |                            |    |    |    | Triclosan |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: 0,02 mg.L <sup>-1</sup> |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                              | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,06                             | 7,56 | 8,3       | 7,1 | 140,5           | 153,9 | 05/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,09                             | 7,10 | 7,6       | -   | 133,5           | 139,8 | 06/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,89                             | -    | 7,1       | -   | 137,1           | -     | 07/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | 7,07 | -         | -   | -               | 155,4 | 09/12 | 4                              | 2                          | 2  | 4  | 4  | 4         | 3  | 3  | 2  | 4  | 10   |
| 7,04                             | 7,56 | -         | -   | 145,7           | 155,2 | 10/12 | .                              | 8                          | 6  | 8  | 4  | 8         | 4  | 6  | 10 | 4  | 10   |
| 7,22                             | 7,15 | -         | -   | 145,9           | 144,5 | 11/12 | 6                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | 2                              | 5                          | 7  | 2  | 4  | 4         | 5  | 2  | 4  | 1  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 12                             | 15                         | 15 | 14 | 12 | 16        | 12 | 11 | 16 | 9  | 13,2 |

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                                | Final do teste: 13/12/2007 |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------------------|----------------------------|----|----|----|-----------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra                        |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem                         |                            |    |    |    | Tipo      |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química             |                            |    |    |    | Triclosan |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: 0,04 mg.L <sup>-1</sup> |                            |    |    |    |           |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                              | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,07                             | 7,54 | 8,3       | 7,1 | 140,7           | 154,7 | 05/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,10 | 7,6       | -   | 133,5           | 139,1 | 06/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,89                             | -    | -         | -   | 136,9           | -     | 07/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
| -                                | 7,08 | -         | -   | -               | 155,2 | 09/12 | 4                              | 2                          | 4  | 3  | 4  | 2         | 2  | 4  | 4  | 4  | 10   |
| 7,02                             | 7,70 | -         | -   | 145,6           | 155,1 | 10/12 | 5                              | 7                          | 4  | 10 | 6  | 5         | 7  | 4  | 8  | 9  | 10   |
| 7,20                             | 7,15 | -         | -   | 145,8           | 143,3 | 11/12 | .                              | .                          | .  | .  | 6  | 4         | 5  | 4  | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | .                              | .                          | .  | .  | .. | .         | .  | .  | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | 2                              | 2                          | 2+ | .  | 2  | 4         | 4  | 3  | 3  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 11                             | 11                         | 10 | 13 | 18 | 15        | 18 | 15 | 15 | 13 | 13,9 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água com ração – Teste 2

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                                | Final do teste: 13/12/2007 |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------------------|----------------------------|----|----|----|-----------|----|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra                        |                            |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem                         |                            |    |    |    | Tipo      |    |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química             |                            |    |    |    | Triclosan |    |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: 0,08 mg.L <sup>-1</sup> |                            |    |    |    |           |    |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                              | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6         | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,06                             | 7,56 | 8,3       | 7,0 | 140,7           | 154,0 | 05/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,11 | 7,6       | -   | 133,6           | 138,9 | 06/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| 6,88                             | -    | -         | -   | 136,8           | -     | 07/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 09/12 | 3                              | 2                          | 3  | 2  | 4  | 4         | 2  | 1 | 3  | 4  | 10   |
| 7,11                             | 7,71 | -         | -   | 145,4           | 157,7 | 10/12 | 5                              | 4                          | 7  | 8  | 9  | 7         | 7  | 6 | .  | 5  | 10   |
| 7,18                             | 7,16 | -         | -   | 146,1           | -     | 11/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | . | 7  | .  | 10   |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | .                              | .                          | .  | .  | .  | .         | .  | . | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | 3                              | 4                          | 3  | 4  | .  | 3         | 1  | . | 2  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 11                             | 10                         | 13 | 14 | 13 | 14        | 10 | 7 | 12 | 9  | 11,3 |

| Início do teste: 05/12/2007      |      |           |     | Hora: 13:30     |       |       |                                | Final do teste: 13/12/2007 |   |   |    |           |   |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|-------|--------------------------------|----------------------------|---|---|----|-----------|---|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |       | Amostra                        |                            |   |   |    |           |   |   |    |    |      |
| Lote: 31                         |      |           |     |                 |       |       | Origem                         |                            |   |   |    | Tipo      |   |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |       | Substância Química             |                            |   |   |    | Triclosan |   |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data  | Ponto: 0,16 mg.L <sup>-1</sup> |                            |   |   |    |           |   |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |       | 1                              | 2                          | 3 | 4 | 5  | 6         | 7 | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,08                             | 7,56 | 8,3       | 7,0 | 140,8           | 154,0 | 05/12 | .                              | .                          | . | . | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,23 | 7,6       | -   | 133,7           | 140,0 | 06/12 | .                              | .                          | . | . | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| 6,92                             | -    | -         | -   | 136,7           | -     | 07/12 | .                              | .                          | . | . | .  | .         | . | . | .  | .  | 10   |
| -                                | 6,92 | -         | -   | -               | 150,4 | 09/12 | 3                              | .                          | 2 | 4 | 4  | 1         | 4 | 3 | .  | 3  | 10   |
| 7,10                             | 7,79 | -         | -   | 145,6           | 155,6 | 10/12 | 3                              | .                          | 3 | . | 5  | .         | 4 | . | 1+ | 6  | 9    |
| 7,20                             | 7,25 | -         | -   | 145,8           | 145,5 | 11/12 | .                              | 5                          | . | 3 | .  | 4         | . | 6 | .  | .  | 9    |
| -                                | -    | -         | -   | -               | -     | 12/12 | .                              | .                          | . | . | .  | .         | . | . | .  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 13/12 | 3                              | .                          | 4 | . | 3  | .         | + | . | .  | .  | 8    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total | 9                              | 5                          | 9 | 7 | 12 | 5         | 8 | 9 | 1  | 9  | 7,4  |

**ANEXO 5 – Testes de toxicidade com *C. dubia* em água sem ração.**

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem razão – Teste 1

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                    | Final do teste: 19/07/2007 |    |    |    | Hora: 13:30 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle    |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,03                             | 7,64 | 7,8       | -   | 136,2           | 134,2 | 12/jul | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,04                             | 7,49 | 8,2       | 7,9 | 136,1           | 140,0 | 13/jul | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,40 | 7,7       | 8,0 | 134,9           | 138,0 | 14/jul | .                  | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,64 | 7,5       | -   | 140,4           | 138,7 | 15/jul | .                  | .                          | 2  | .  | .  | 3           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,08 | 7,0       | 7,8 | 138,9           | 142,0 | 16/jul | 4                  | 1                          | .  | 1  | 2  | .           | 2  | 3  | 4  | 4  | 10   |
| 7,07                             | 7,28 | 7,9       | 7,7 | 126,0           | 142,8 | 17/jul | 8                  | 8                          | 5  | 10 | 8  | 4           | 8  | 6  | 7  | 7  | 10   |
| 7,05                             | 7,15 | 8,0       | 9,1 | 137,0           | 140,1 | 18/jul | .                  | .                          | 10 | .  | .  | .           | X  | .  | .  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | 8                  | 10                         | .  | 8  | 9  | 9           |    | 10 | 7  | 10 | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 20                 | 19                         | 17 | 19 | 19 | 16          | 10 | 19 | 18 | 21 | 17,8 |

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                      | Final do teste: 19/07/2007 |    |    |    | Hora: 13:30 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra              |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem               |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química   |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: A - 0,01 mg/L |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                    | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,02                             | 7,67 | 7,9       | -   | 135,2           | 135,1 | 12/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,16                             | 7,25 | 8,2       | 7,3 | 136,9           | 140,3 | 13/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,25                             | 7,38 | 7,7       | 8,0 | 135,0           | 141,6 | 14/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,96                             | 7,60 | 7,7       | 7,9 | 139,3           | 139,5 | 15/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,37                             | 7,11 | 7,5       | 7,8 | 137,9           | 142,7 | 16/jul | 2                    | 3                          | 4  | 1  | 2  | 3           | 4  | 4  | 2  | 3  | 10   |
| 6,74                             | 7,18 | 7,9       | 7,3 | 150,5           | 141,4 | 17/jul | 5                    | 6                          | 8  | 6  | 6  | 5           | 6  | 6  | 7  | 5  | 10   |
| 6,85                             | 7,29 | 8,0       | 9,0 | 137,1           | 138,1 | 18/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | 9                    | 9                          | 10 | 10 | 8  | 11          | 12 | 10 | 12 | 11 | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 16                   | 18                         | 22 | 17 | 16 | 19          | 22 | 20 | 21 | 19 | 19   |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem ração – Teste 1

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                      | Final do teste: 19/07/2007 |    |    |    | Hora: 13:30 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra              |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem               |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química   |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: B - 0,02 mg/L |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                    | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,06                             | 7,72 | 7,9       | -   | 135,6           | 135,7 | 12/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,52 | 8,2       | 7,9 | 135,5           | 139,3 | 13/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,14                             | 7,37 | 7,9       | 8,0 | 135,2           | 137,5 | 14/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,91                             | 7,56 | 7,8       | -   | 139,9           | 140,0 | 15/jul | .                    | .                          | 2  | .  | .  | .           | 2  | .  | 2  | .  | 10   |
| 7,24                             | 7,21 | -         | 7,9 | 138,1           | 139,4 | 16/jul | 4                    | 4                          | .  | 4  | 3  | 5           | .  | 3  | .  | 3  | 10   |
| 6,98                             | 7,19 | 7,3       | 7,8 | 140,5           | 141,1 | 17/jul | 5                    | 9                          | 7  | 7  | 7  | 7           | 6  | .  | 6  | 7  | 10   |
| 7,03                             | 7,40 | 8,0       | 9,1 | 137,4           | 140,5 | 18/jul | .                    | .                          | 10 | .  | .  | .           | .  | 8  | 11 | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | 10                   | 10                         | .  | 9  | 11 | 12          | 9  | 11 | .  | 7  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 19                   | 23                         | 19 | 20 | 21 | 24          | 17 | 22 | 19 | 17 | 19,6 |

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                      | Final do teste: 19/07/2007 |    |    |    | Hora: 13:30 |    |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra              |                            |    |    |    |             |    |   |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem               |                            |    |    |    | Tipo        |    |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química   |                            |    |    |    | Triclosan   |    |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: C - 0,04 mg/L |                            |    |    |    |             |    |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                    | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,07                             | 7,64 | 8,0       | -   | 135,6           | 136,0 | 12/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,04                             | 7,50 | 8,0       | 7,6 | 135,7           | 140,0 | 13/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,13                             | 7,25 | 7,8       | 7,8 | 135,4           | 138,1 | 14/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 6,88                             | 7,51 | 7,8       | -   | 140,0           | 140,7 | 15/jul | .                    | .                          | .  | 4  | .  | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,21                             | 7,06 | -         | 7,9 | 138,0           | -     | 16/jul | 3                    | 2                          | .  | .  | 3  | 4           | 1  | 2 | 3  | 4  | 10   |
| 7,06                             | 7,27 | 7,9       | 7,4 | 140,3           | 140,7 | 17/jul | 6                    | 5                          | 5  | 7  | 4  | 2           | 6  | 3 | 6  | 8  | 10   |
| 6,99                             | 7,40 | 8,0       | 8,9 | 137,0           | 139,6 | 18/jul | .                    | .                          | 11 | 9  | .  | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | 10X                  | 11                         | .  | .  | 9  | 10          | 8  | 4 | 9  | 5  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 19                   | 18                         | 16 | 20 | 16 | 16          | 15 | 9 | 18 | 17 | 16,4 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem ração – Teste 1

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                      | Final do teste: 19/07/2007 |    |    |    | Hora: 13:30 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------|----------------------------|----|----|----|-------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra              |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem               |                            |    |    |    | Tipo        |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química   |                            |    |    |    | Triclosan   |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: D - 0,08 mg/L |                            |    |    |    |             |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                    | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6           | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,08                             | 7,58 | 8,0       | -   | 135,6           | 135,0 | 12/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,57 | 8,0       | 7,8 | 136,2           | 138,8 | 13/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,19 | 7,9       | 7,7 | 135,4           | 138,4 | 14/jul | .                    | .                          | .  | .  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,89                             | 7,50 | 7,9       | -   | 139,8           | 139,9 | 15/jul | 5                    | .                          | .  | 3  | .  | .           | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,19                             | 7,06 | -         | 7,9 | 137,8           | 140,8 | 16/jul | .                    | 3                          | 3  | .  | 3  | 4           | 2  | 3  | 4  | 4  | 10   |
| 7,07                             | 7,22 | 7,9       | 7,1 | 140,3           | 142,5 | 17/jul | 5                    | 6                          | 7  | 7  | .  | 7           | 4  | 7  | 4  | 7  | 10   |
| 6,99                             | 7,26 | 8,1       | 8,9 | 137,7           | 139,4 | 18/jul | 8                    | .                          | .  | .  | 6  | .           | .  | 2X | .  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | .                    | 9                          | 9  | 9  | 9  | 9           | 7  |    | 10 | 10 | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 18                   | 18                         | 19 | 19 | 18 | 20          | 13 | 12 | 18 | 21 | 17,6 |

| Início do teste: 12/07/2007      |      |           |     | Hora: 15:30     |       |        |                      | Final do teste: 19/07/2007 |   |    |   | Hora: 13:30 |    |   |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|----------------------|----------------------------|---|----|---|-------------|----|---|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra              |                            |   |    |   |             |    |   |    |    |      |
| Lote: 26                         |      |           |     |                 |       |        | Origem               |                            |   |    |   | Tipo        |    |   |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química   |                            |   |    |   | Triclosan   |    |   |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: E - 0,16 mg/L |                            |   |    |   |             |    |   |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                    | 2                          | 3 | 4  | 5 | 6           | 7  | 8 | 9  | 10 | Vivo |
| 7,10                             | 7,49 | 8,0       | -   | 135,7           | 134,7 | 12/jul | .                    | .                          | . | .  | . | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,08                             | 7,46 | 8,0       | 7,6 | 135,9           | 139,0 | 13/jul | .                    | .                          | . | .  | . | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,20 | 7,9       | 7,6 | 135,0           | 138,1 | 14/jul | .                    | .                          | . | .  | . | .           | .  | . | .  | .  | 10   |
| 6,88                             | 7,50 | 7,8       | -   | 140,1           | 139,7 | 15/jul | .                    | .                          | . | .  | . | .           | .  | . | .  | 3  | 10   |
| 7,19                             | 7,06 | --        | 7,9 | 138,3           | 139,2 | 16/jul | 4                    | 4                          | 4 | 2  | 4 | 3           | 1  | 4 | 4  | .  | 10   |
| 7,05                             | 7,36 | 7,9       | 7,5 | 140,0           | 142,1 | 17/jul | .                    | .                          | X | 6  | . | 3           | 4  | 3 | 6  | 5  | 9    |
| 6,97                             | 7,34 | 8,0       | 8,6 | 137,3           | 140,7 | 18/jul | 6                    | 6                          |   | 4  | . | .           | .  | . | .  | 6  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 19/jul | .                    | 6                          |   | 4  | . | 4           | 5  | . | 5  | .  | 9    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 10                   | 16                         | 4 | 16 | 4 | 11          | 10 | 7 | 15 | 14 | 10,7 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem ração – Teste 2

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |    |    |    | Hora 12:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|----|----|----|------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |    |    |    |            |    |    |    |    |      |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |    |    |    | Tipo       |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan  |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: Controle    |                            |    |    |    |            |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6          | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,02                             | 7,40 | 7,9       | -   | 136,0           | 135,2 | 15/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,52 | 8,2       | 7,8 | 135,4           | 142,0 | 16/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,02                             | 7,60 | 7,5       | 8,0 | 137,0           | 142,0 | 17/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,03                             | 7,64 | 7,8       | -   | 138,0           | 138,7 | 18/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,29 | 7,9       | 8,1 | 128,0           | 138,0 | 19/ago | 4                  | 4                          | 3  | 4  | 4  | 7          | 7  | 3  | 4  | 4  | 10   |
| 7,01                             | 7,74 | 7,8       | 8,5 | 138,0           | 142,0 | 20/ago | 5                  | 5                          | 10 | 12 | 8  | .          | .  | 8  | .  | .  | 10   |
| 7,00                             | 7,30 | 7,8       | 8,0 | 144,0           | 143,0 | 21/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | .  | .  | 4  | 4  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | 7                  | 6                          | 7  | 5  | 9  | 9          | 5  | 10 | 2  | 2  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 16                 | 15                         | 20 | 21 | 21 | 16         | 12 | 21 | 10 | 10 | 16,2 |

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |    |   |    | Hora 12:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|----|---|----|------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |    |   |    |            |    |    |    |    |      |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |    |   |    | Tipo       |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |    |   |    | Triclosan  |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: A - 0,01    |                            |    |   |    |            |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3  | 4 | 5  | 6          | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,03                             | 7,70 | 7,9       | -   | 135,2           | 135,8 | 15/ago | .                  | .                          | .  | . | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 7,24 | 8,1       | 7,8 | 138,0           | 140,2 | 16/ago | .                  | .                          | .  | . | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,24                             | 7,36 | 7,7       | 8,0 | 136,0           | 141,6 | 17/ago | .                  | .                          | .  | . | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,80 | 7,8       | 7,6 | 140,8           | 142,7 | 18/ago | .                  | .                          | .  | . | .  | .          | .  | 2  | .  | 4  | 10   |
| 7,05                             | 7,70 | 7,8       | 8,1 | 130,0           | 143,0 | 19/ago | 4                  | 4                          | 4  | 4 | 4  | 3          | 4  | 4  | 5  | .  | 10   |
| 7,09                             | 8,00 | 7,6       | 8,2 | 140,0           | 140,0 | 20/ago | 5                  | 6                          | 6  | . | 5  | 7          | 5  | 4  | 6  | 7  | 10   |
| 7,05                             | 7,70 | 7,9       | 8,3 | 145,0           | 144,0 | 21/ago | .                  | .                          | .  | . | 8  | .          | .  | 7  | .  | 8  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | 9                  | .                          | 7  | 1 | 7  | 6          | 6  | .  | 4  | 1  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 18                 | 10                         | 17 | 5 | 21 | 16         | 15 | 17 | 15 | 20 | 15,4 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem ração – Teste 2

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |    |    |    | Hora 12:00 |   |    |    |    |       |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|----|----|----|------------|---|----|----|----|-------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |    |    |    |            |   |    |    |    |       |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |    |    |    | Tipo       |   |    |    |    |       |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan  |   |    |    |    |       |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: B - 0,02    |                            |    |    |    |            |   |    |    |    |       |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6          | 7 | 8  | 9  | 10 | Vivo  |
| 7,04                             | 7,72 | 7,9       | -   | 135,0           | 136,8 | 15/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10    |
| 7,03                             | 7,53 | 8,0       | 8,2 | 140,0           | 143,5 | 16/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10    |
| 7,12                             | 7,38 | 7,9       | 8,2 | 135,8           | 141,0 | 17/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10    |
| 6,98                             | 7,28 | 7,7       | -   | 138,2           | 138,9 | 18/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | 4          | . | .  | 4  | 1  | 10    |
| 7,14                             | 7,50 | 7,8       | 8,0 | 130,1           | 138,0 | 19/ago | 4                  | 3                          | 4  | 4  | 5  | .          | . | 4  | .  | 4  | 10    |
| 7,01                             | 7,19 | 7,9       | 7,8 | 138,9           | 141,0 | 20/ago | 4                  | .                          | 4  | 6  | .  | 5          | . | .  | 6  | 2  | 10    |
| 7,02                             | 7,40 | 8,0       | 9,0 | 142,3           | 139,9 | 21/ago | .                  | 8                          | .  | .  | .  | 4          | . | 6  | 9  | 9  | 10    |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | 9                  | 4                          | 3  | 6  | 7  | 2          | . | 4  | .  | 1  | 10    |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 17                 | 15                         | 11 | 16 | 12 | 15         |   | 14 | 19 | 17 | 15,11 |

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |   |    |    | Hora 12:00 |    |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|---|----|----|------------|----|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |   |    |    |            |    |    |    |    |      |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |   |    |    | Tipo       |    |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |   |    |    | Triclosan  |    |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: C - 0,04    |                            |   |    |    |            |    |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3 | 4  | 5  | 6          | 7  | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,07                             | 7,62 | 7,9       | -   | 136,8           | 136,9 | 15/ago | .                  | .                          | . | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,04                             | 7,52 | 8,0       | 8,2 | 142,0           | 142,5 | 16/ago | .                  | .                          | . | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 7,12                             | 7,42 | 7,8       | 8,0 | 138,2           | 139,1 | 17/ago | .                  | .                          | . | .  | .  | .          | .  | .  | .  | .  | 10   |
| 6,98                             | 7,30 | 7,7       | -   | 138,9           | 140,0 | 18/ago | 4                  | .                          | . | .  | 2  | .          | 4  | .  | .  | 4  | 10   |
| 7,20                             | 7,34 | 7,8       | 8,0 | 140,0           | 142,0 | 19/ago | .                  | .                          | 3 | 5  | .  | 4          | .  | 4  | 5  | 5  | 10   |
| 7,06                             | 7,12 | 7,8       | 7,9 | 138,8           | 140,0 | 20/ago | 8                  | .                          | . | 7  | 6  | 5          | 9  | 5  | 4  | .  | 10   |
| 6,99                             | 7,30 | 8,1       | 9,0 | 139,0           | 140,2 | 21/ago | 8                  | .                          | . | .  | 10 | .          | 10 | .  | .  | 8  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | .                  | .                          | . | .  | 4  | 6          | 5  | 5  | 6  | 3  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 20                 |                            | 3 | 12 | 22 | 15         | 18 | 14 | 15 | 20 | 16,5 |

### Teste de toxicidade com *C. dubia* em água sem razão – Teste 2

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |    |    |    | Hora 12:00 |   |    |    |    |      |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|----|----|----|------------|---|----|----|----|------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |    |    |    |            |   |    |    |    |      |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |    |    |    | Tipo       |   |    |    |    |      |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |    |    |    | Triclosan  |   |    |    |    |      |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: D - 0,08    |                            |    |    |    |            |   |    |    |    |      |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3  | 4  | 5  | 6          | 7 | 8  | 9  | 10 | Vivo |
| 7,09                             | 7,48 | 8,0       | -   | 136,7           | 140,0 | 15/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10   |
| 7,06                             | 7,60 | 8,0       | 8,1 | 136,9           | 140,0 | 16/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10   |
| 7,07                             | 7,43 | 7,9       | 8,0 | 138,2           | 139,9 | 17/ago | .                  | .                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | .  | 10   |
| 6,98                             | 7,40 | 7,8       | -   | 140,1           | 142,0 | 18/ago | 2                  | 4                          | .  | .  | .  | .          | . | .  | .  | 4  | 10   |
| 7,19                             | 7,24 | 8,0       | 7,9 | 138,3           | 142,0 | 19/ago | 6                  | 7                          | 4  | 5  | 5  | 4          | 2 | 4  | 5  | .  | 10   |
| 7,01                             | 7,19 | 7,8       | 7,9 | 138,9           | 140,0 | 20/ago | .                  | .                          | 4  | .  | .  | 5          | . | 6  | 4  | 8  | 10   |
| 7,02                             | 7,40 | 8,0       | 8,7 | 140,0           | 142,0 | 21/ago | 8                  | 10                         | .  | .  | 6  | 5          | . | 1  | .  | 9  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | 2                  | .                          | 7  | 7  | 7  | 2          | 1 | 7  | 7  | .  | 10   |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 18                 | 21                         | 15 | 12 | 18 | 16         | 3 | 18 | 16 | 21 | 15,8 |

| Início do teste: 15/08/2007      |      |           |     | Hora: 11:00     |       |        |                    | Final do teste: 22/08/2007 |   |   |   | Hora 12:00 |   |   |   |    |       |
|----------------------------------|------|-----------|-----|-----------------|-------|--------|--------------------|----------------------------|---|---|---|------------|---|---|---|----|-------|
| Água de cultivo e/ou de diluição |      |           |     |                 |       |        | Amostra            |                            |   |   |   |            |   |   |   |    |       |
| Lote: 27                         |      |           |     |                 |       |        | Origem             |                            |   |   |   | Tipo       |   |   |   |    |       |
|                                  |      |           |     |                 |       |        | Substância Química |                            |   |   |   | Triclosan  |   |   |   |    |       |
| pH                               |      | OD (mg/L) |     | Cond. (µS25/cm) |       | Data   | Ponto: E - 0,16    |                            |   |   |   |            |   |   |   |    |       |
| ini                              | fin  | ini       | fin | ini             | fin   |        | 1                  | 2                          | 3 | 4 | 5 | 6          | 7 | 8 | 9 | 10 | Vivo  |
| 7,12                             | 7,50 | 8,0       | -   | 135,9           | 142,0 | 15/ago | .                  | .                          | . | . | . | .          | . | . | . | .  | 10    |
| 7,07                             | 7,59 | 8,0       | 8,1 | 138,0           | 139,0 | 16/ago | .                  | .                          | . | . | . | .          | . | . | . | .  | 10    |
| 7,06                             | 7,39 | 7,9       | 8,1 | 140,2           | 142,9 | 17/ago | .                  | .                          | . | . | . | .          | + | . | . | .  | 9     |
| 6,89                             | 7,30 | 7,8       | -   | 142,0           | 139,8 | 18/ago | .                  | .                          | . | . | . | .          | . | . | . | .  | 9     |
| 7,19                             | 7,10 | 8,2       | 7,9 | 139,0           | 144,0 | 19/ago | 2                  | 3                          | 1 | + | . | 3          | . | . | 2 | .  | 8     |
| 7,04                             | 7,19 | 7,9       | 7,8 | 139,2           | 139,9 | 20/ago | .                  | 4                          | . | . | . | .          | . | . | + | .  | 7     |
| 6,99                             | 7,30 | 7,9       | 8,9 | 142,5           | 145,0 | 21/ago | 3                  | .                          | 4 | . | 6 | 5          | . | 5 | . | 3  | 7     |
|                                  |      |           |     |                 |       | 22/ago | .                  | 6                          | . | . | 3 | 2          | . | 1 | . | .  | 7     |
|                                  |      |           |     |                 |       | Total  | 5                  | 13                         | 5 | 0 | 9 | 10         | . | 6 | 2 | 3  | 5,889 |