

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA LITORAL NORTE  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: ÊNFASE EM GESTÃO AMBIENTAL  
MARINHA E COSTEIRA – BACHARELADO**

**INGRID COSTANZI GRAZZIOTIN**

**TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE SOLUÇÕES CONTENDO  
MOXIFLOXACINO ANTES E APÓS O TRATAMENTO POR DEGRADAÇÃO  
SOLAR**

**OSÓRIO  
2020**

**INGRID COSTANZI GRAZZIOTIN**

**TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE SOLUÇÕES CONTENDO  
MOXIFLOXACINO ANTES E APÓS O TRATAMENTO POR DEGRADAÇÃO  
SOLAR**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a obtenção do título de bacharela em Ciências Biológicas: Ênfase em Gestão Ambiental Marinha e Costeira na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.

Orientadora: Profa Ma Daiana Maffessoni  
Co-orientadora: Dra. Cláudia Regina Klauck

**OSÓRIO  
2020**

Aos examinadores,

Este trabalho está formatado segundo “HENTGES, Carina da Silva de Lima, *et al.* **Manual para publicação de Trabalhos Acadêmicos e Científicos da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.** ISBN 978-85-60231-40-9. 1ª ed. Porto Alegre. 2018. 109 p.” que é baseado nas normas ABNT.

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

G785t Grazziotin, Ingrid Costanzi  
Toxicidade e genotoxicidade de soluções contendo moxifloxacino antes e após o tratamento por degradação solar. / Ingrid Costanzi Grazziotin. – Osório, 2020.

35 f. ; il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas: Ênfase em Gestão Ambiental Marinha e Costeira, Unidade em Litoral Norte - Osório, 2020.

Orientadora: Profª. Ma. Daiana Maffessoni.  
Coorientadora: Profª. Drª. Cláudia Regina Klauck.

1. Fluoroquinolona. 2. Bioensaios. 3. Poluentes emergentes. I. Maffessoni, Daiana. II. Klauck, Cláudia Regina. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da UERGS

**INGRID COSTANZI GRAZZIOTIN**

**TOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE SOLUÇÕES CONTENDO  
MOXIFLOXACINO ANTES E APÓS O TRATAMENTO POR DEGRADAÇÃO  
SOLAR**

Monografia apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharela em Ciências Biológicas: Ênfase em Gestão Ambiental Marinha e Costeira na Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Ma. Daiana Maffessoni

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Ma. Daiana Maffessoni  
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ester Wolff Loitzenbauer  
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

---

Dr<sup>a</sup> Tatiane Benvenuti  
Universidade Estadual de Santa Cruz

**OSÓRIO  
2020**

## AGRADECIMENTOS

Por alguns momentos eu cogitei o fato de não inserir os agradecimentos nesse trabalho, mas que injusto estaria sendo com todas as pessoas que se envolveram para que eu pudesse chegar aqui, não acham? Após muito pensar, decidi vir aqui agradecer a pessoas as quais, sem elas, eu não estaria aqui escrevendo esse texto, neste trabalho.

Primeiramente eu tenho que agradecer à Carla (minha mãe), pessoa que NUNCA desistiu de mim, de me fazer sempre correr atrás dos meus sonhos, das minhas loucuras, compartilhou comigo diversas aventuras, sempre me motivou a ser uma pessoa melhor e doou o que pôde de si para que eu pudesse ter tudo o que tive de base nessa vida e sem ela eu (realmente) não estaria aqui;

Ao meu avô Osvaldo, que não mediu esforços para me auxiliar financeiramente no meu período de graduação e que, apesar de do seu jeito diferenciado em demonstrar amor, nunca deixou de me apoiar e investir no meu futuro;

Ao meu pai Carlos por, mesmo tendo falecido antes do meu início na graduação, teve sua parte nos meus estudos e na pessoa que sou;

À minha orientadora, Daiana Maffessoni, por acreditar no meu trabalho com as análises de parte dos dados do Doutorado dela, por me auxiliar em todo o processo desse trabalho com disposição, não desistiu de mim, e por realizar o trabalho como professora desencadeando dentro de mim a curiosidade e vontade de querer saber mais e trabalhar com saneamento básico e gestão de resíduos, além de ter se tornado uma amiga pra mim;

À Claudia Klauck, por todo o apoio e base científica para realização desse trabalho;

E por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer a todos os meus familiares, amigos, colegas, professores, técnicos e chefes por terem sido meu suporte durante toda minha trajetória acadêmica, por terem me ajudado nos períodos em que mais precisei, me ajudaram a aprender, estudar, correr atrás, por terem me feito ser quem eu sou e também agradecer aos inimigos, pois vocês também fizeram eu me tornar uma pessoa melhor (por não querer ser como vocês).

## RESUMO

Os poluentes orgânicos emergentes (POEs) são compostos químicos encontrados em produtos estéticos, medicamentos, agrotóxicos, entre outros. Esses compostos não possuem regulamentação acerca de sua destinação final (tratamento e lançamento), além de os tratamentos tradicionais de água não os removerem, podendo apresentar riscos à saúde humana, bem como dos demais seres vivos. Para remoção dos POEs é crescente o uso de processos oxidativos avançados (POAs) que frequentemente resultam na mineralização completa dos poluentes durante o tratamento, no entanto, por vezes, os POAs geram subprodutos de degradação que podem ser tão ou até mais tóxicos do que o composto original. Diante desse contexto, o presente trabalho avaliou uma solução contendo o POE moxifloxacino, antibiótico do grupo das fluoroquinolonas, com avaliação da toxicidade aguda por meio dos organismos *Lactuca sativa* e da toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade com *Allium cepa* (L.), com concentração de 5 ppm antes (B5) e após (T5) o tratamento de degradação solar. Além disso, foi simulado um efluente com maior concentração (75ppm), chamado de B75, a fim de simular um efluente de indústria farmacêutica. Os testes com antibiótico indicaram toxicidade aguda apenas para B75 em *L. sativa*. Houve redução de citotoxicidade e genotoxicidade após o tratamento, nas amostras T5, o que indica eficiência do POA utilizado para redução da toxicidade do efluente e, mesmo que tenham sido gerados subprodutos, são menos tóxicos do que o composto original.

**Palavras-chave:** fluoroquinolona; bioensaios; poluentes emergentes.

## ABSTRACT

Emerging organic pollutants (EOPs) are chemical compounds found in aesthetic products, medicines, pesticides, among others. These compounds have no regulation on their final destination (treatment and discharge), additionally, traditional water treatments do not remove them, and may present risks to human health, as well as other living beings. For the removal of EOPs, the use of advanced oxidative processes that often result in complete mineralization during treatment is increasing, however, sometimes AOPs generate degradation byproducts that may be as much as if not more toxic than the original compound. In this context, the present study evaluated solutions containing the EOP moxifloxacin, fluoroquinolone group antibiotic with acute toxicity assessment by *Lactuca sativa* (L.) organisms and acute toxicity, cytotoxicity and genotoxicity with *Allium cepa* (L.) with concentration of 5 ppm before (B5) and after (T5). The treatment of solar degradation. The highest concentrated solution, called B75 intended to simulate a pharmaceutical industry effluent. The evaluation of antibiotic solutions indicated acute toxicity only for B75 in *L. sativa*. in the T5 samples, there was cytotoxicity and genotoxicity reduction after treatment.,It indicates the efficiency of the AOP applied aiming to reduce effluent toxicity. Even if byproducts have been generated, they are less toxic than the original compound.

**Keywords:** fluoroquinolone; bioassay; emerging pollutants.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reator CPC utilizando catalisador imobilizado. ....	18
Figura 2 - Representação esquemática da análise de toxicidade com <i>L. sativa</i> .....	19
Figura 3 - Representação esquemática da análise de toxicidade e genotoxicidade com <i>A. cepa</i> . ....	21
Figura 4 - Comparação do percentual das médias do desenvolvimento radicular com <i>L. sativa</i> para cada diluição avaliada. ....	23
Figura 5 - Percentual das média do desenvolvimento radicular com <i>A. cepa</i> para cada diluição avaliada. ....	24
Figura 6 - Média das alterações cromossômicas. ....	26
Figura 7 - Células com divisão normal e células com alterações cromossômicas. ...	27
Figura 8 - Percentual do índice mitótico nos testes com <i>Allium cepa</i> . ....	29

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Frequência de alterações cromossômicas para o efluente antes e após o tratamento de degradação solar.....	25
Tabela 2 - Índice mitótico para o efluente antes e após o tratamento de degradação solar. ....	28

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

<b>FAC</b>	Frequência de alterações cromossômicas
<b>FQ</b>	Fluoroquinolona
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentração inibitória máxima (Maximal inhibitory concentration)
<b>IM</b>	Índice Mitótico
<b>MOX</b>	Moxifloxacino
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>US EPA</b>	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1	POLUENTES ORGÂNICOS EMERGENTES .....	11
1.2	PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS .....	12
1.3	ENSAIOS DE TOXICIDADE .....	13
1.4	MOXIFLOXACINO .....	14
1.5	OBJETIVOS .....	16
1.5.1	<b>Objetivo geral</b> .....	16
1.5.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	17
2.1	PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E TRATAMENTO EM FOTORREATOR ...	17
2.2	BIOENSAIOS .....	18
2.2.1	<b>Avaliação da toxicidade em <i>Lactuca sativa</i></b> .....	18
2.2.2	<b>Avaliação da toxicidade em <i>Allium cepa</i></b> .....	19
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	22
3.1	Toxicidade aguda com <i>Lactuca sativa</i> .....	22
3.2	Toxicidade aguda com <i>Allium cepa</i> .....	23
3.3	Genotoxicidade com <i>Allium cepa</i> .....	24
3.4	Citotoxicidade com <i>Allium cepa</i> .....	27
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	31
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 POLUENTES ORGÂNICOS EMERGENTES

Os poluentes orgânicos emergentes (POEs), ou poluentes emergentes, são compostos químicos, tais como, produtos farmacêuticos, estéticos, agrotóxicos, embalagens de alimentos, etc., que não possuem regulamentação de tratamento e lançamento no ambiente e podem apresentar riscos à saúde humana ainda que detectados em baixas concentrações (SILVA e COLLINS, 2011).

O aumento populacional aliado à facilidade de acesso ao consumo que se desenvolveu após a Revolução Industrial têm influenciado no aumento dos resíduos produzidos gerando problemas ambientais, principalmente com contaminação de solo e água (KLAUCK, 2013). Com isso, aumentou o uso de grandes quantidades de medicamentos e produtos de higiene pessoal pela sociedade, ampliou o número de poluentes presentes no ambiente.

De acordo com Castiglioni, *et al.*(2004), a poluição por produtos farmacêuticos é um fenômeno complexo, potencialmente atribuível a milhares de moléculas diferentes pertencentes a várias classes terapêuticas, com distintas propriedades físico-químicas, estruturas químicas, comportamento ambiental e persistência.

A presença de poluentes emergentes em diferentes matrizes no Brasil foi apontada por Starling e colaboradores (2018). Os autores identificaram cafeína, paracetamol, atenolol, ibuprofeno, cefalexina e bisfenol. Os mesmos ocorrem na faixa  $\mu\text{g.L}^{-1}$  em riachos próximos a áreas urbanas. Além disso, disruptores endócrinos foram frequentemente detectados em águas superficiais, com maiores concentrações de 17 $\alpha$ -etinilestradiol e 17 $\beta$ -estradiol.

A ocorrência desses micropoluentes nas águas têm sido associada a diversos efeitos negativos, como a toxicidade a longo prazo, desregulação endócrina e a resistência dos microrganismos aos antibióticos. Podem ainda, causar bioacumulação em ecossistemas aquáticos e terrestres (PAL *et al.*, 2010; YANG, *et al.*, 2017).

## 1.2 PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS

Os sistemas tradicionais de tratamento de água não controlam a remoção de poluentes emergentes e os subprodutos gerados, que inserem-se no ciclo da água, e tendem a se apresentar no ambiente em concentrações cada vez maiores. Na busca de processos mais eficientes, foram desenvolvidos processos oxidativos avançados (POAs), que têm se mostrado bastante eficazes no tratamento de águas mineralizando poluentes emergentes (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Tendo em vista essas problemáticas ambientais e a ineficiência dos processos de tratamento convencionais, os processos oxidativos avançados, como ozonização em meio alcalino, eletrooxidação, fotoeletrooxidação e fotocátalise, são alternativas para tratamento de diversos efluentes contaminados com compostos orgânicos, como efluentes residenciais, industriais, chorume proveniente de lixões, etc., melhorando a qualidade final. (KLAUCK, 2013).

Esses processos são baseados na geração de radicais livres como a hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ); este radical possui alto poder oxidante e pode promover a degradação de vários compostos poluentes em poucos minutos. A fotocátalise solar heterogênea consiste no uso de radiação solar (visível e próxima ao UV) para foto excitar um semicondutor catalítico na presença de oxigênio com objetivo de degradar ou mineralizar poluentes refratários de águas contaminadas (SPASIANO, 2015).

Os POAs têm sido amplamente estudados e utilizados devido a sua eficácia na degradação dos poluentes emergentes, diversidade de opções de tratamento e alta velocidade de reação, que tendem a facilitar de associação com outros processos já tradicionalmente usados (BERNARDES *et al.* (org.) 2018).

Entretanto, a utilização de POAs para a degradação de complexos orgânicos frequentemente não resulta na mineralização completa desses compostos durante o tratamento, levando à formação de compostos intermediários (subprodutos) que podem ser tão ou até mais tóxicos do que o composto inicial (NOGUERA-OVIEDO, AGA; 2016). Diante deste fato, a avaliação da toxicidade e seus impactos sobre diversos organismos podem indicar a verdadeira eficiência do sistema de tratamento de efluentes permitindo verificar os riscos ambientais associados ao lançamento de efluentes (LEUSCH *et al.*, 2014; NOGUERA-OVIEDO; AGA, 2016).

### 1.3 ENSAIOS DE TOXICIDADE

De acordo com o CONAMA 430/11, os testes de ecotoxicidade são métodos utilizados para detectar e avaliar a capacidade de um agente tóxico provocar efeito nocivo, utilizando bioindicadores dos grandes grupos de uma cadeia ecológica.

Testes de toxicidade aguda são considerados como o primeiro passo em uma abordagem de toxicidade escalonada para estabelecer concentrações máximas aceitáveis de poluentes em corpos hídricos. Os testes de citotoxicidade e genotoxicidade de contaminantes ambientais prevêm uma avaliação do risco ecotoxicológico de substâncias genotóxicas em efluentes (KLAUCK; RODRIGUES; SILVA, 2015).

Bioensaios vegetais são consideravelmente mais baratos, tendo sido utilizados para monitoramento de poluição desde o início de seu uso, a cerca de 60 anos atrás (GROVER, 1999). *Allium cepa* (L.) e *Lactuca sativa* (L.) estão na lista das 10 espécies recomendadas pela US EPA (1996) para estudos ecotoxicológicos.

A *Lactuca sativa* é uma espécie amplamente utilizada em análises com bioensaios, sendo o uso das sementes considerado um ensaio estático de toxicidade aguda de 120 horas de exposição, o qual avalia os efeitos fitotóxicos de um composto puro ou de mistura, avaliando a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas no período de exposição (RODRÍGUEZ, 2003).

De acordo com Fiskesjö (1985), a *Allium cepa* é muito conhecida e tem sido utilizada para o estudo de mecanismos básicos, bem como para marcar os efeitos dos produtos químicos, sendo sugerido como um material de teste padrão por órgãos como a Academia Real Sueca de Ciências. Grover (1999) relata que os testes genotóxicos com *Allium cepa* são validados pelo Programa Internacional de Segurança Química e pelo Programa Ambiental das Nações Unidas. Além disso, é um organismo usado em testes de citotoxicidade e genotoxicidade, por seu crescimento rápido das raízes, alto número de células em divisão, disponibilidade anual e baixo número cromossômico ( $2n=16$ ) (VENTURA-CAMARGO; MARIN-MORALES, 2016).

Em *A. cepa*, o nível de citotoxicidade pode ser determinado pela redução do índice mitótico, sendo considerado letal ao organismo testado quando o índice mitótico apresenta 22% de redução em relação ao grupo controle e a genotoxicidade pode ser

avaliada por número de aberrações e quebras cromossômicas, pontes anafásicas, entre outros (SMAKA-KINCL *et al.*, 1996 *apud* ANTONSIEWICZ, 1990; GRANT, 1982; RADIĆ, 2010).

Leme e Marin-Morales (2009) descreveram vários trabalhos onde correlacionam positivamente os testes realizados com *A. cepa* em relação à extrapolação de dados para outros alvos, como o homem, indicando o benefício destes testes. Grant (1982) testou 148 produtos químicos e a cebola apresentou resultados positivos para toxicidade em 76%, tendo o autor concluído que é um ótimo teste para analisar padrões de danos cromossômicos. Fiskesjö (1985) relatou que os testes com cebola apresentam a mesma sensibilidade que a observada em testes com algas e linfócitos humanos. Chauhan *et al.* (1999) identificaram correlação positiva entre estudos com *A. cepa* e com mamíferos.

Radić (2010) relatou, em bioensaios com células do meristema radicular de *A. cepa*, que o organismo apresentou respostas tóxicas, fitotóxicas e genotóxicas induzidos por amostra de indústria química de produção de azitromicina.

Bioensaios de germinação de sementes de alface também têm sido bastante utilizados e tendem a mostrar o impacto dos efluentes industriais na germinação (CHARLES *et al.*, 2011).

#### 1.4 MOXIFLOXACINO

O moxifloxacino (MOX) é uma fluoroquinolona (FQ) da terceira geração. De acordo com ANVISA (2009), é um agente antibacteriano de amplo espectro, agindo em microrganismos gram-positivos, gram-negativos, anaeróbios e bactérias resistentes a ácidos, como a *Chlamydia* spp. Durante o consumo terapêutico humano, as FQs não são metabolizadas completamente e, conseqüentemente, são parcialmente (>50%) excretadas em sua forma ativa no efluente sanitário encaminhado ao esgotamento municipal. Devido a sua limitada biodegradabilidade, elevado uso e remoção incompleta nas estações de tratamento de esgoto (ETEs), as FQs acumulam-se no ambiente e causam diversos efeitos sobre organismos aquáticos (PAUL, *et al.*, 2010).

Segundo Brain *et al.* (2008), entre diversos antibióticos testados, as quinolonas

apresentam-se entre as mais potentes em relação à fitotoxicidade, sendo as fluoroquinolonas identificadas por afetar a replicação de cloroplastos nas algas *Chlamydomonas reinhardtii*. Doorslaer *et al.* (2015) mostraram que o moxifloxacino causa efeitos de toxicidade como a inibição do crescimento sobre a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* maior do que outra FQ, o ciprofloxacino. Ainda, demonstraram que o tratamento fotocatalítico reduz a inibição da taxa de crescimento de algas de 72% para 14% ao longo de um período de tempo de 150 min. Enquanto o MOX estiver presente na solução de reação, é o principal agente de inibição do crescimento de algas. Mesmo que o MOX seja completamente removido, nenhuma mineralização de carbono foi observada e a espectrometria de massa de alta resolução permitiu a identificação de 13 produtos de degradação (subprodutos). O fato de que a inibição do crescimento ainda foi observada em soluções tratadas – das quais o MOX foi removido abaixo de seu limite de detecção – também indica que os produtos de degradação não devem ser negligenciados na avaliação de toxicidade.

O Moxifloxacino é um desses poluentes onde tecnologias limpas de tratamento das águas estão sendo estudadas para a sua remoção. Mesmo sendo removidos (não mais detectados) em sistemas de tratamento avançados, os poluentes emergentes podem gerar diversos subprodutos de degradação sendo mais poluentes do que o composto original. Como citado anteriormente, de acordo com Doorslaer e colaboradores (2015), o Moxifloxacino gera 13 produtos de degradação, daí se justifica a importância da realização de ensaios de toxicidade para avaliação da real eficiência dos sistemas de tratamento.

Para avaliar a toxicidade e genotoxicidade desses poluentes nos efluentes, métodos de bioensaios com bactérias, plantas e animais são utilizados. A espécie escolhida para realizar os testes deve apresentar sensibilidade a agentes tóxicos, ser de fácil manipulação e conseguir replicar suas condições ambientais em laboratório (WIECZERZAK, NAMIESNIK e KUDLAK, 2016). Em vista disso, foram selecionadas espécies que são encontradas em diversos trabalhos, que são a *Lactuca sativa* (alface, variedade crespa) e a *Allium cepa* (cebola, variedade cristal/conserva).

## 1.5 OBJETIVOS

### 1.5.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade do moxifloxacino em águas, antes e após tratamento por degradação solar.

### 1.5.2 Objetivos específicos

- Avaliar a toxicidade aguda, a citotoxicidade e a genotoxicidade do moxifloxacino em bulbos de *Allium cepa* antes e após o tratamento por degradação solar;
- Avaliar a toxicidade aguda do moxifloxacino em sementes de *Lactuca sativa* antes e após o tratamento por degradação solar;
- Qualificar os resultados obtidos quanto à eficiência da fotocatalise solar.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS E TRATAMENTO EM FOTORREATOR

O efluente contendo moxifloxacino foi preparado no Laboratório da UERGS de Bento Gonçalves-RS. Com o intuito de não haver outros contaminantes, foram utilizados água destilada e cloridrato de moxifloxacino em pó.

As análises de toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade com o efluente contendo moxifloxacino foram realizadas nas seguintes condições:

- B75: 75 ppm bruto, simulando o efluente de uma indústria farmacêutica;
- B5: 5 ppm bruto, antes do tratamento em reator solar;
- T5: tratado via reator solar de concentração inicial 5 ppm.

As soluções foram acondicionadas em bombonas, protegidas da luz solar. Os testes comparativos foram realizados com grupos de análise controle (água destilada), diferentes condições do MOX em diluições de 25%, 50%, 75% e 100% de concentração.

A amostra B5 foi tratada em reator do tipo coletor parabólico composto (CPC). O efluente tratado nesse reator deu origem às amostras nomeadas de T5.

O reator CPC é o mais eficiente utilizado para degradação solar. Nesse reator, o efluente circula no interior de tubos cilíndricos de vidro borossilicato com uma base de alumínio, que reflete a radiação solar nos tubos (CAVALLIN e BAYER, 2014). No interior dos tubos é utilizado um catalisador imobilizado ( $\text{TiO}_2$ ) para acelerar o processo fotocatalítico.

A Figura 1 apresenta o fotorreator CPC onde a reação fotocatalítica aconteceu. O tratamento em bateladas de 4 litros de solução contendo MOX foi realizado por 6 horas, sob luz solar e recirculação do efluente pelos tubos com o auxílio de uma bomba.

No ensaio que deu origem às amostras T5 a eficiência de degradação de MOX foi de 65,95%. Em termos de Carbono Orgânico Total (COT), que representa a fração orgânica presente no efluente e serve para identificação da presença de subprodutos, não houve remoção de COT, ou seja, apesar de o composto original ter sido parcialmente degradado, ele não foi mineralizado e a análise de COT identificou que a presença de subprodutos de degradação. O que justifica a necessidade de se

realizarem ensaios de toxicidade para verificar se a degradação do MOX gerou subprodutos mais ou menos tóxicos e subsequentemente avaliar a eficiência do POA utilizado.

Figura 1 - Reator CPC utilizando catalisador imobilizado.



Fonte: Autor (2019).

## 2.2 BIOENSAIOS

De acordo com Fiskesjö (1985), o uso das plantas na pesquisa são eficazes pois as mesmas são fáceis de armazenar e manusear, geralmente apresentam boas condições cromossômicas, baixo custo e boa correlação com outros sistemas de teste.

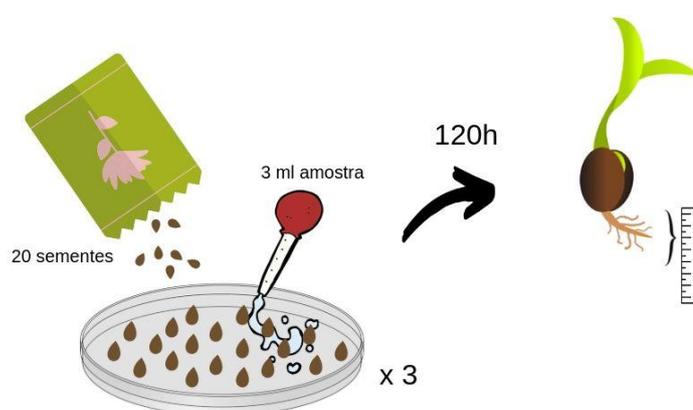
As amostras, antes e após o tratamento por luz solar, foram testadas em indivíduos de *Lactuca sativa* (alface variedade crespa) e *Allium cepa* (cebola variedade cristal) a fim de avaliar a toxicidade aguda, a citotoxicidade e a genotoxicidade do componente e também da eficácia do tratamento pelo processo oxidativo avançado.

### 2.2.1 Avaliação da toxicidade em *Lactuca sativa*

Os testes foram realizados de acordo com o protocolo da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, 1996) com modificações (Figura 2), o qual consiste em triplicata por cada grupo (controle e diluições de cada condição testada)

com 20 sementes em cada placa de Petri, com papel filtro quantitativo embebido em 2ml de amostra a 25° C por 120h, totalizando 15 placas em cada teste. Após esse período foi medida cada raiz desenvolvida com um paquímetro universal de aço inox da marca Wurth® e a contagem das sementes não germinadas em cada placa. Foram utilizadas sementes de alface da variedade crespa da marca Isla® sementes, com taxa de germinação de 98% e pureza de 99,9%, sendo as mesmas isentas de defensivos, porém não orgânicas.

Figura 2 - Representação esquemática da análise de toxicidade com *L. sativa*



Fonte: Autor (2018).

### 2.2.2 Avaliação da toxicidade em *Allium cepa*

Os bulbos de cebola da variedade cristal utilizados nos testes eram livres de agroquímicos, adquiridos na Rede de Orgânicos do município de Osório/RS, a fim de minimizar qualquer interferência química no desenvolvimento radicular dos bulbos. Baseado na metodologia de Fiskesjö adaptado por Rank e Nielsen (1998) (Figura 3), para aclimatar os bulbos, foram selecionados 6 unidades por grupo, que totalizam 30 bulbos. As raízes secas foram retiradas e os bulbos colocados em água de abastecimento público por 24h para aclimação. Após esse período foram avaliadas as cebolas que menos desenvolveram raízes e estas foram descartadas, restando 5 unidades por grupo, totalizando 25 bulbos. Na sequência, os bulbos de cada grupo foram expostos à cada condição de avaliação por 48h em temperatura ambiente, com fotoperíodo de 12h. Após esse período, foram medidas as três maiores raízes de cada bulbo, que gerou uma média do comprimento das raízes, sendo esse resultado

aplicado no índice de IC<sub>50</sub> (concentração inibitória média), a fim de obter resultados positivos ou negativos para toxicidade aguda.

Após esse procedimento, as raízes foram armazenadas em tubos *Eppendorfs* e preservadas em solução de Carnoy 3:1 (Etanol 99,5%; ácido acético glacial) por 24h, sendo posteriormente conservadas em Etanol 70% e refrigeradas a 10°C.

A fim de se classificar o índice mitótico e as alterações cromossômicas das células, utilizou-se a metodologia baseada em Rank e Nielsen (1998). As lâminas histológicas são feitas com o tecido da ponta da raiz, onde se localiza o meristema apical radicular. Foi analisada uma lâmina para cada bulbo, totalizando 25 lâminas. Para isso, as raízes foram lavadas em água destilada e hidrolisadas com ácido clorídrico (HCl 1N) por 10 minutos a 70°C. Após, as raízes foram lavadas novamente em água destilada e preparadas na lâmina. Foram colocadas cerca de 4 pontas de raízes numa lâmina, esmagadas e submersas com 3 gotas do coranteorceína acética 2% (preparada com 55 mL de ácido acético glacial, 2g deorceína, 10 mL de HCl 1N e água deionizada para avolumar até 100 mL) e colocou-se a lamínula por cima. Após 1h, o excesso do corante foi retirado e a lâmina foi selada nas bordas com esmalte de unhas para análise no microscópio óptico. As lâminas foram analisadas com o aumento de 400x e 1000x, onde cada lâmina resultou na contagem de 1000 células em qualquer fase de divisão celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) para a determinação do índice mitótico e 200 células em anáfase e telófase para a frequência de alterações cromossômicas, registrando as alterações cromossômicas visualizadas.

O índice mitótico (IM), que representa a citotoxicidade foi calculado para o B75, T5 e B5, da seguinte forma:

$$IM = \frac{\Sigma \text{ todas as divisões celulares}}{n^{\circ} \text{ total células contadas}}$$

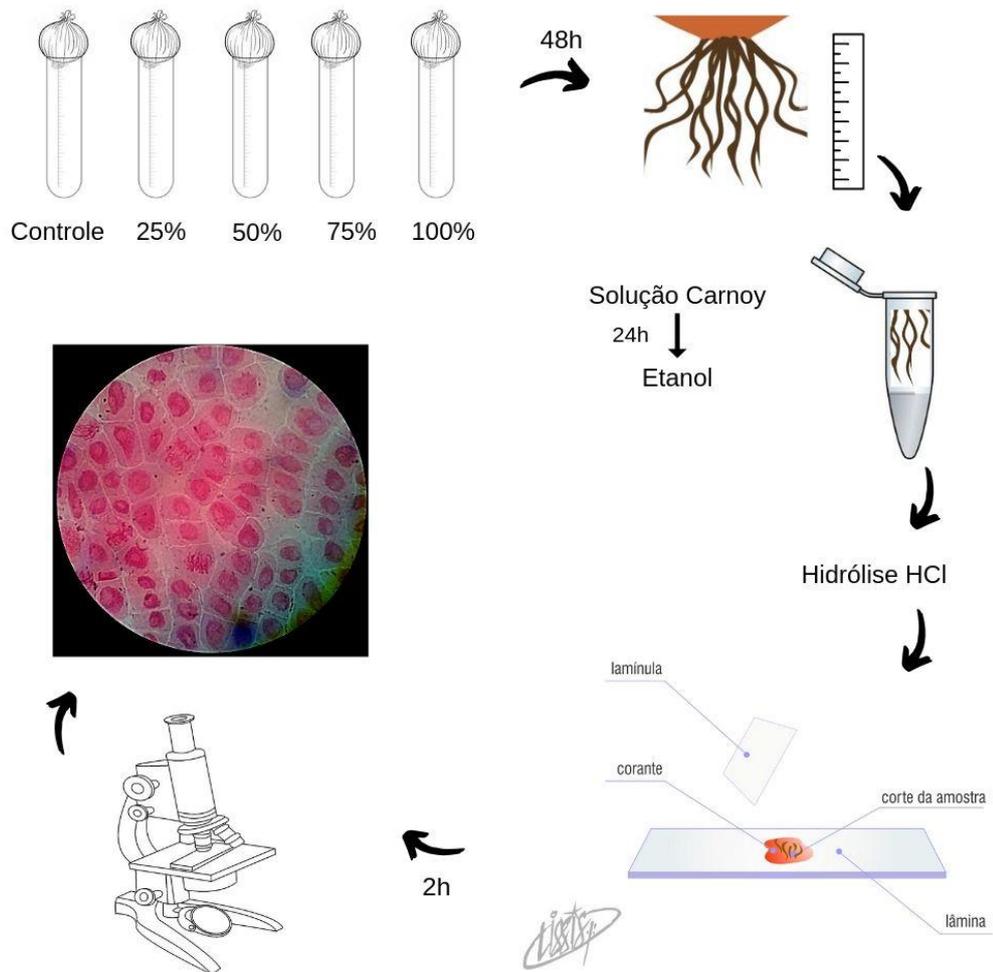
Para calcular a frequência de alterações cromossômicas (FAC) que representa a genotoxicidade, para o efluente bruto (B5) e o tratado (T5) utilizou-se a fórmula:

$$FAC = \frac{n^{\circ} \text{ células com alterações}}{n^{\circ} \text{ total anáfase e telófase}}$$

Quanto maior o índice mitótico, menor é a citotoxicidade e quanto maior a

frequência de alterações cromossômicas, mais genotóxica é a solução testada (SCHMITZ, 2018).

Figura 3 - Representação esquemática da análise de toxicidade e genotoxicidade com *A. cepa*.



Fonte: Autor (2018).

Posterior à contagem das células, os dados obtidos foram tabelados e processados no software *Rstudio*, onde as médias do IM e do FAC das amostras representativas do grupo controle e das diluições foram comparadas através de análises de ANOVA e posteriormente com o teste de Tukey com nível de significância de 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os bioensaios com organismos vegetais apresentam vantagens pela fácil manipulação e obtenção de resultados rápidos e precisos em relação a contaminantes ambientais.

Foram avaliados um total de 45 sementes de alface, 75 bulbos de cebola e aproximadamente 90.000 células entre as 3 condições do antibiótico testadas (B75, B5 e T5) e suas diluições (25%, 50%, 75% e 100%). Os resultados de cada análise estão organizados por teste e o organismo utilizado.

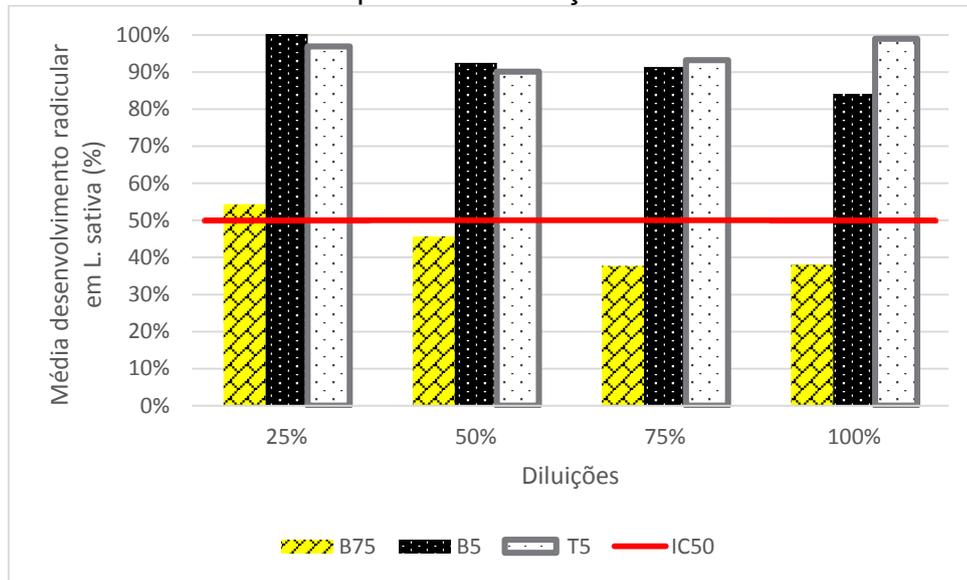
#### 3.1 Toxicidade aguda com *Lactuca sativa*

Os ensaios de toxicidade aguda das soluções de MOX com concentração de 75 ppm (B75) e 5 ppm bruto (B5) e após o tratamento em reator solar (T5) e suas diluições foram realizados com *Lactuca sativa* onde as médias de crescimento radicular das sementes foram comparadas ao grupo controle a partir do IC<sub>50</sub>.

As comparações das médias em relação ao grupo controle estão apresentadas em porcentagem na Figura 4 e demonstraram que a amostra de moxifloxacino bruto 75 ppm (B75), concentração que simula o efluente de uma indústria farmacêutica, demonstrou uma toxicidade aguda nas diluições de 50%, 75% e 100%. No estudo realizado por Montañés *et al.* (2019) com *L. sativa* foi descrito toxicidade para amostra com concentrações acima de 350mg/L (350ppm) de norfloxacin que, relacionando com os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se indicar que o potencial toxicológico do MOX é maior em comparação à norfloxacin.

A amostra bruta (B5) e tratada (T5) não demonstraram resposta à toxicidade aguda com *L. sativa*. Apesar do MOX ser uma fluoroquinolona como o norfloxacin, em elevadas concentrações (na condição de B75) a alface foi sensível e apresentou toxicidade aguda ao composto testado.

Figura 4 - Comparação do percentual das médias do desenvolvimento radicular com *L. sativa* para cada diluição avaliada.



Fonte: Autor (2019).

O aumento da concentração de MOX causa a redução da média de crescimento das raízes isso se deve ao aumento da toxicidade aguda oferecida pelo antibiótico, conforme descrito por Montañés *et al.* (2019) em estudos com a Norfloxacin.

### 3.2 Toxicidade aguda com *Allium cepa*

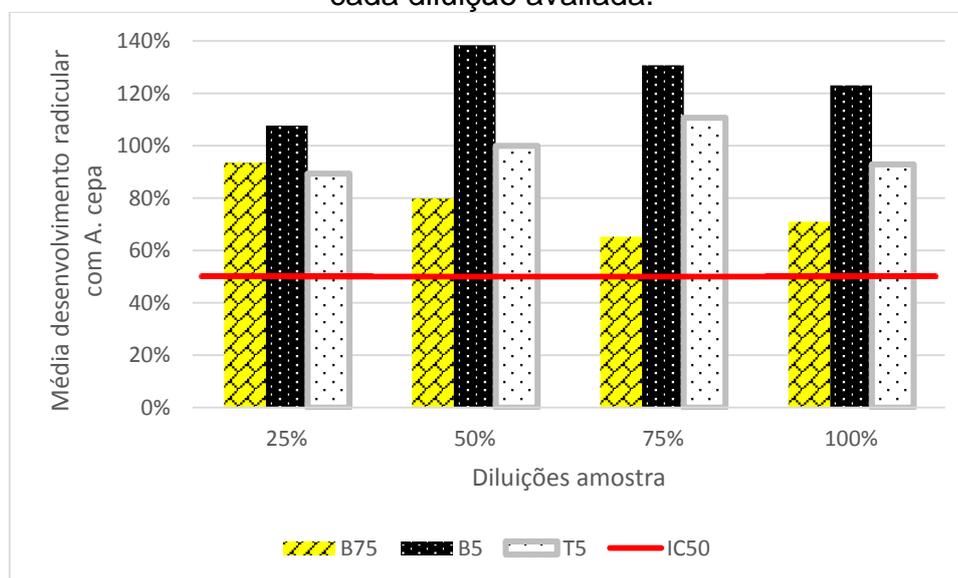
Testes de toxicidade aguda com *Allium cepa* também foram realizados para B75, B5 e T5 e suas diluições.

Diferentemente dos ensaios com *Lactuca sativa*, os testes de toxicidade aguda com o organismo *A. cepa* não apresentaram toxicidade aguda quanto à inibição do desenvolvimento radicular de acordo com o índice IC<sub>50</sub> em nenhum dos grupos de amostras testados (Figura 5).

Análises com *A. cepa* demonstram redução de índice mitótico e do tamanho de raízes em testes com amostras de água de rio com influência antropogênica, bem como efeito genotóxico, com aberrações cromossômicas e micronúcleo (BATISTA *et al.*, 2016). Isso não ocorreu com os resultados do tamanho das raízes obtidos no presente trabalho, indicando que o MOX não produziu efeito de toxicidade aguda nas

concentrações testadas no organismo-teste *A. cepa*.

Figura 5 - Percentual das média do desenvolvimento radicular com *A. cepa* para cada diluição avaliada.



Fonte: Autor (2019).

### 3.3 Genotoxicidade com *Allium cepa*

Defeitos mitóticos desencadeiam falha no alinhamento dos cromossomos, levando a alterações cromossômicas, como atraso mitótico ou parada da mitose, podendo desencadear mutações e iniciar processos carcinogênicos (BRAGA *et al.*, 2018).

Para analisar os processos acima citados, a frequência de alterações cromossômicas (FAC) é um método utilizado a fim de avaliar a genotoxicidade de um composto e está relacionado com o total de alterações cromossômicas observadas em, no mínimo, 200 células em anáfase e telófase contadas. A Tabela 1 apresenta a soma, a média e a variância das FACs para B5 e T5. Além disso, apresenta o valor-P (probabilidade de as distorções nos resultados serem ao acaso) da análise de variância (ANOVA) dentro dos grupos B5 e T5.

Tabela 1 - Frequência de alterações cromossômicas para o efluente antes e após o tratamento de degradação solar.

<b>B5 (bruto 5 ppm)</b>					
<b>Diluição</b>	<b>Contagem (n)</b>	<b>Soma</b>	<b>Média</b>	<b>Variância</b>	<b>Valor-P</b>
0%	4	0,005	0,00125	6,25E-06	
25%	5	0,155	0,031	0,000805	
50%	4	0,355	0,08875	0,006523	0,03
75%	5	0,23	0,046	0,00083	
100%	4	0,005	0,00125	6,25E-06	
<b>T5 (tratado 5ppm)</b>					
0%	5	0,025	0,005	3,75E-05	
25%	5	0	0	0	
50%	4	0,005	0,00125	6,25E-06	0,10
75%	5	0,015	0,003	7,5E-06	
100%	5	0,000025	0,000005	1,25E-10	

Fonte: Autor (2019).

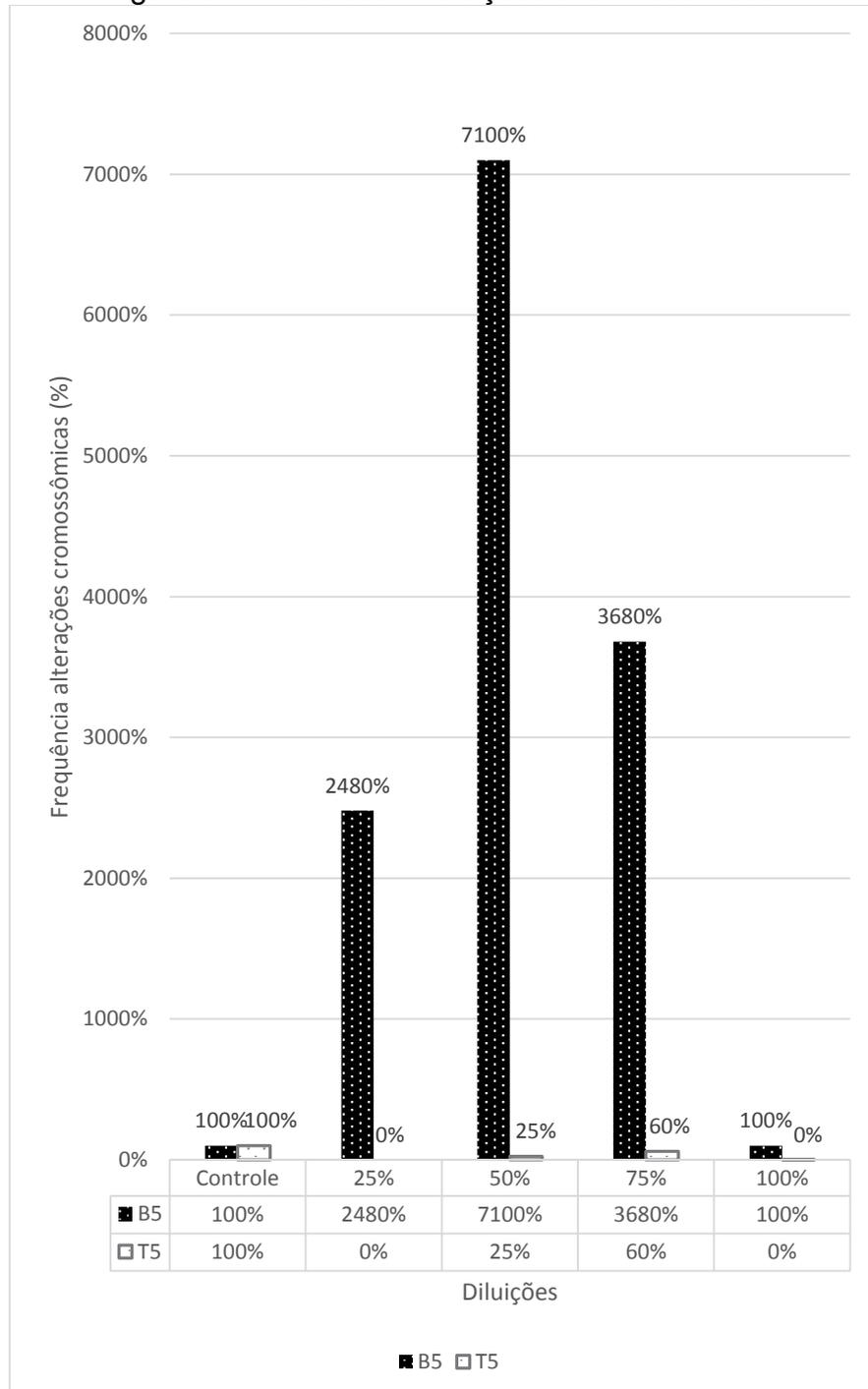
Comparando-se estatisticamente o efluente bruto e o tratado (B5 e T5), houve diferença bastante significativa, com valor-P sendo  $5.15E-07$ . A amostra correspondente ao efluente de 5ppm tratado 100% (T5 100%) diferiu significativamente do 50% (valor-P 0.0000188) e 75% (valor-P 0.0009212) do bruto.

A Figura 6 apresenta as FACs em percentual, onde é possível notar a discrepância entre o bruto e o tratado. Isso aponta que o tratamento de fotocatalise solar foi eficiente para remoção da genotoxicidade do efluente e que o MOX é genotóxico para *A. cepa*, demonstrando a problemática desse POE no ambiente.

A amostra B5 apresentou 22% (do total de cebolas analisadas) de lâminas sem presença de divisões celulares, sendo sua maioria na maior diluição, com um valor próximo a 100% das células contadas em prófase, podendo estar relacionado ao efeito anti-proliferativo, evento semelhante ao relatado por Braga *et al.* (2018) em testes com omeprazol e Herrero *et al.* (2012) em testes com triclosan e di (2-etil-hexil) ftalato.

Dizdari (2013) realizou bioensaios com pesticidas em organismo-teste *A. cepa* e alguns resultados demonstraram um acúmulo de prófase, que pode ser explicada pela inibição da mitose ou extensão dos ciclos celulares, podendo ser atribuído ao bloqueio da divisão celular no final prófase. Esta ocorrência acaba por diminuir a comparação entre as amostras que foram contabilizadas com frequências cromossômicas. Fato que também ocorreu para as amostras de efluente 100% bruto no presente trabalho.

Figura 6 - Média das alterações cromossômicas.

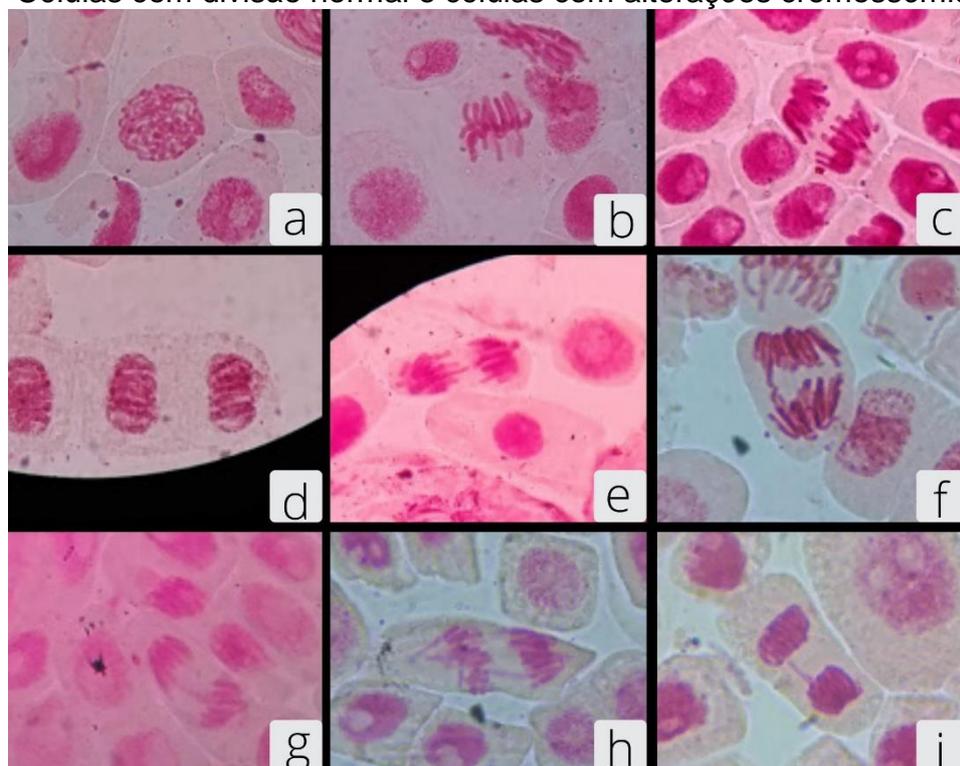


Fonte: Autor (2019).

As alterações visualizadas nas células do organismo *A. cepa* na exposição às amostras contendo MOX estão identificadas na Figura 7, sendo o atraso cromossômico (representados na Figura 7 pelas letras e, f e g) a anormalidade mais

frequente detectada (84%). As pontes em anáfase e telófase (representados na Figura 7 pelas letras *h* e *i*) resultaram em 22% das alterações cromossômicas analisadas, sendo causada por segregação cromossômica prejudicada, podendo sugerir alterações no fuso mitótico dessas células (HERRERO *et al.*, 2012). Além disso, de acordo com Braga *et al.* (2018) algumas alterações estruturais nos cromossomos são considerados como biomarcadores para mutagenicidade e, dentre eles, um dos descritos é o atraso cromossômico.

Figura 7 - Células com divisão normal e células com alterações cromossômicas.



Divisões celulares normais em (a) prófase, (b) metáfase, (c) anáfase e (d) telófase e divisões celulares com alterações em (e) anáfase com atraso(f,g,h) anáfase com ponte e (i) telófase com ponte).

Fonte: Autor (2019).

### 3.4 Citotoxicidade com *Allium cepa*

A citotoxicidade é avaliada baseada na proporção de células em processo de divisão celular no total da contagem, em comparação ao grupo controle e é representada pelo índice mitótico (IM). Quanto maior o índice mitótico, menor foi a interferência da solução testada.

A Tabela 2 apresenta a média, a variância e o desvio padrão nas condições B75, B5 e T5, além do valor-P obtido via ANOVA dentro das 3 condições.

Na condição B75 foram observadas diferenças significativas (valor-P 0,02144) das diluições com relação ao grupo controle. O teste de Tukey indicou que as diluições 75 % (valor-P 0,04652) e 100 % (valor-P 0,02322) apresentaram significativamente menos divisões celulares em relação ao controle. Sendo este, um forte indicativo da problemática ambiental acerca desses poluentes quando provenientes dos efluentes gerados por indústrias farmacêuticas (onde estão em altas concentrações).

Dentro das condições B5 e T5 não houve diferenças significativas (valor-P >0,05) de IM nos grupos controle e as diluições.

Comparando-se o efluente bruto (B5) e o tratado (T5) houve alteração significativa no índice mitótico com valor- P de 0,000717, ou seja, o IM difere no bruto e no tratado. O teste de Tukey identificou diferença significativa de maior índice mitótico para as diluições 25 % (valor-P 0,0132472) e 75 % (valor-P 0,0269408) do efluente tratado (T5) com relação ao efluente 100 % bruto (B5).

Tabela 2 - Índice mitótico para o efluente antes e após o tratamento de degradação solar.

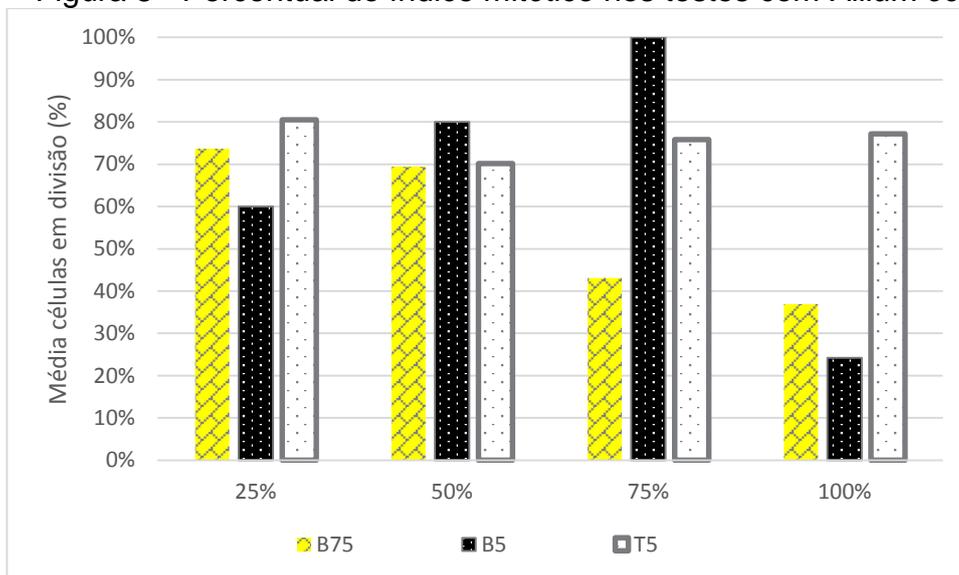
<b>B75 (bruto 75 ppm)</b>					
<b>Diluição</b>	<b>Contagem (n)</b>	<b>Soma</b>	<b>Média</b>	<b>Variância</b>	<b>Valor-P</b>
0%	5	0,645	0,129	0,000109	
25%	5	0,475	0,095	0,004186	
50%	5	0,448	0,0896	0,0007168	0,02144
75%	5	0,278	0,0556	0,0006928	
100%	5	0,238	0,0476	0,0016428	
<b>B5 (bruto 5 ppm)</b>					
0%	4	0,226	0,0565	0,000803	
25%	5	0,17	0,034	0,001227	
50%	4	0,181	0,04525	0,000137	0,073655
75%	5	0,284	0,0568	0,000284	
100%	4	0,055	0,01375	4,43E-05	
<b>T5 (tratado 5 ppm)</b>					
0%	5	0,529	0,1058	0,000997	
25%	5	0,426	0,0852	0,000735	
50%	4	0,297	0,07425	0,00065	0,346325
75%	5	0,401	0,0802	0,000589	
100%	5	0,327	0,0654	0,001687	

Fonte: Autor (2019).

A Figura 8 mostra o índice mitótico em formato percentual nas três condições

analisadas e de acordo com as diluições.

Figura 8 - Percentual do índice mitótico nos testes com *Allium cepa*.



Fonte: Autor (2019).

Esse resultado foi semelhante ao obtido por Schmitz (2018) que identificou em testes de genotoxicidade com *Allium cepa* com a solução da ciprofloxacina (outra fluoroquinolona) tratada com POA (UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) um aumento do índice mitótico, indicando a minimização dos seus efeitos adversos no ambiente aquático.

Testes com efluentes de diferentes qualidades, realizado por Smaka-Kincl, *et al.* (1996) identificou em efluentes industriais e municipais não tratados geram um aumento severo na citotoxicidade e genotoxicidade das amostras, que pode ser relacionado com os resultados obtidos para citotoxicidade das amostras B5 e B75. Radić (2010) identificou citotoxicidade em amostras de águas residuais municipais, cuja relação pode ser feita com o obtido na amostra de B5, cuja concentração poderia ser encontrada em locais de lançamento de efluentes sanitários. Estes efluentes contêm diversas substâncias que podem reagir entre si, e causar respostas diferentes do que os compostos isolados, podendo intensificar ou diminuir efeitos dos compostos.

Esperava-se que quanto maior a concentração do antibiótico, maior seria a inibição do desenvolvimento radicular (toxicidade aguda), mais aberrações cromossômicas seriam contadas (genotoxicidade), bem como um menor índice mitótico seria encontrado. Essas diferenças de resposta à toxicidade aguda e citotoxicidade dos testes em comparação não corresponderam ao esperado em

algumas diluições. Tal fato pode ser explicado pelo efeito Hormesis que, de acordo com Agathokleous *et al.* (2019) e Agathokleous e Calabrese (2019), é uma relação bifásica dose-resposta de ação de determinada substância em um organismo, demonstrando que organismo teste pode apresentar em dose baixa do poluente uma resposta oposta ao obtido em dose alta, ou seja, em concentrações menores pode desencadear respostas ao poluente mais expressivas do que em doses mais altas do mesmo.

Experimentos realizados com o reator solar CPC demonstram ser possível utilizar esta técnica para degradar antibióticos em concentrações similares às encontradas nos corpos de água ou efluentes domésticos. O uso da radiação solar em POAs é uma tendência de tecnologia limpa que vem merecendo atenção especial. Aliado a fotocatalise heterogênea com fotocatalisador suportado, este processo pode ser efetivamente implementado em maiores escalas, uma vez que dispensa o uso de reagentes auxiliares e consumo energético de lâmpadas, além da baixa necessidade de manutenção (PASCHOALINO, 2013).

A combinação de análises físico-químicas com métodos citogenéticos é importante a fim de compreender melhor a toxicidade de poluentes e sua influência na saúde (Radić, *et al.*, 2010), salientando a importância de estudos voltados para esta área.

## 4 CONCLUSÃO

Nas análises de toxicidade aguda, citotoxicidade e genotoxicidade para as soluções de moxifloxacino na concentração de 75ppm bruto (B75), 5ppm bruto (B5) e 5 ppm após o tratamento por fotocatalise solar (T5) foram realizadas com organismos-teste *Allium cepa* e *Lactuca sativa*.

Foi observada toxicidade aguda em *L. sativa* apenas para concentrações mais elevadas (B75). Para *A. cepa* não houve toxicidade aguda para as três condições testadas. Assim, para testes de toxicidade aguda com antibiótico MOX, a *Lactuca sativa* apresentou melhor resposta em relação a *A. cepa*.

A genotoxicidade, representada pelo aumento da frequência de alterações cromossômicas em relação ao grupo controle, demonstrou uma diferença significativa entre o tratado (T5) na diluição 100% e o bruto (B5) nas diluições de 50% e 75%.

Na citotoxicidade, representada pela redução do índice mitótico em comparação ao grupo controle, houve alteração significativa no índice entre o bruto e o tratado de 5ppm (B5 e T5), com maior índice no efluente tratado (T5). Entre as diluições da solução B75 houve menor índice mitótico com relação ao grupo controle.

O processo fotocatalítico solar reduziu a citotoxicidade (aumentou IM) e a genotoxicidade (reduziu FAC) do efluente bruto (na comparação entre T5 e B5), atestando a eficiência do POA. Mesmo que tenham sido gerados subprodutos, de acordo com os ensaios realizados, estes demonstraram ser menos tóxicos do que o composto original (MOX).

Este trabalho indica que sistemas baseados na degradação solar podem auxiliar na proteção ambiental ao degradar POE.

## REFERÊNCIAS

AGATHOKLEOUS, E. *et al.* The two faces of nanomaterials: A quantification of hormesis in algae and plants. **Environment International**, [s.l.], v. 131, p.1-10, 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2019.105044>.

AGATHOKLEOUS, E.; CALABRESE, E. J.. Hormesis: The dose response for the 21st century. **Toxicology**, [s.l.], v. 425, p.2-5, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2019.152249>.

ANVISA, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Bula profissional Cloridrato de Moxifloxacino**. Disponível em:< [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=7242152015&pIdAnexo=2800668](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=7242152015&pIdAnexo=2800668)> Acesso em: 03 jul 2019.

ANTOSIEWICZ, D. Analysis of the cell cycle in the root meristem of *Allium cepa* under the influence of Leda Krin. **Folia Histochemica Et Cytobiologica**, [n.i.], v. 26, p.79-96, 2019.

ARAÚJO, K. S. *et al.* Processos oxidativos avançados: uma revisão de fundamentos e aplicações no tratamento de águas residuais urbanas e efluentes industriais. **Revista Ambiente & água – An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. v. 11 n. 2, p. 387 – 401, 2016.

BATISTA, Nelson Jorge Carvalho *et al.* Genotoxic and mutagenic evaluation of water samples from a river under the influence of different anthropogenic activities. **Chemosphere**, [s.l.], v. 164, p.134-141, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.08.091>.

BERNARDES, A. M. *et al.* (orgs.). **Saneamento ambiental e reuso de água: técnicas avançadas de tratamento**. Benchimore Soluções Gráficas. São Leopoldo, 2018.

BRAGA, A. L. *et al.* Toxicogenetic study of omeprazole and the modulatory effects of retinol palmitate and ascorbic acid on *Allium cepa*. **Chemosphere**, [s.l.], v. 204, p.220-226, 2018. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.021>.

BRAIN, R. A., *et al.* Aquatic Plants Exposed to Pharmaceuticals: Effects and Risks. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, 67–115, 2008. doi:10.1007/978-0-387-71724-1\_3.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **RESOLUÇÃO N° 430**: Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA.. Brasília. 2011. 9 p.

CASTIGLIONI, S. *et al.* Methodological approaches for studying pharmaceuticals in the environment by comparing predicted and measured concentrations in River Po, Italy. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**. v. 39, n. 1, p.25-32, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2003.10.002>.

CAVALLIN, E.; BAYER, F.; **Avaliação do Potencial de Processos Fenton na Degradação de diferentes compostos modelo empregando reator de bancada e reator solar tipo CPC.** 2014. 83 f. Monografia de Curso Superior em Tecnologia em Processos Ambientais (título de Tecnólogo) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba. 2014.

CHARLES, J. *et al.* Evaluation of the phytotoxicity of polycontaminated industrial effluents using the lettuce plant (*Lactuca sativa*) as a bioindicator. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], v. 74, n. 7, p.2057-2064, out. 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.07.025>.

CHAUHAN, L.K.S.; SAXENA, P.N.; GUPTA, S.K.. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. **Environmental And Experimental Botany**, [n.i.], v. 42, p.181-189, jun. 1999.

DIZDARI, A. M.; KOPLIKU, D.. Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. **Procedia Technology**, [s.l.], v. 8, p.19-26, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.protcy.2013.11.005>.

DOORSLAER, X. V. *et al.*; Heterogeneous photocatalysis of moxifloxacin in water: Chemical transformation and ecotoxicity. **Chemosphere**, 119. S75–S80. 2015.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, Lund, v. 102, p.99-112, 1985. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>>. Acesso em 11 Nov. 2019.

GRANT, W. F. Chromosome aberration assays in *Allium*: A report of the U.S Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. **Mutation Research**, Quebec, v. 99, p.273-291, 1982.

GROVER, I.S; KAUR, S. Genotoxicity of wastewater samples from sewage and industrial effluent detected by the *Allium* root anaphase aberration and micronucleus assays. **Mutation Research/fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis**, [s.l.], v. 426, n. 2, p.183-188, maio 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107\(99\)00065-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0027-5107(99)00065-2).

HENTGES, C. S. L., *et al.* **Manual para publicação de Trabalhos Acadêmicos e Científicos da Universidade Estadual do Rio Grande do Sul.** ISBN 978-85-60231-40-9. 1ª ed. Porto Alegre. 109 p., 2018.

HERRERO, O. *et al.* Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research/genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 743, n. 1-2, p.20-24, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.12.028>.

KLAUCK, C. R. **Aplicação de Processos Oxidativos Avançados ao tratamento de chorume de aterro sanitário.** 2013. 84 f. Dissertação de Pós-Graduação em Qualidade Ambiental (título de mestre em Qualidade Ambiental) – Universidade

Feevale, Novo Hamburgo. 2013.

KLAUCK, C.R; RODRIGUES, M.A.S; SILVA, L.B. Evaluation of phytotoxicity of municipal landfill leachate before and after biological treatment. **Brazilian Journal Of Biology**, v. 75, p.57-62, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.1813>.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/reviews In Mutation Research**, [s.l.], v. 682, n. 1, p.71-81, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>.

LEUSCH, F. D. L. *et al.* Assessment of the application of bioanalytical tools as surrogate measure of chemical contaminants in recycled water. **Water Research**, v. 49, p. 300–315, 2014.

MONTAÑÉS, M.T. *et al.* Analysis of norfloxacin ecotoxicity and the relation with its degradation by means of electrochemical oxidation using different anodes. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, [s.l.], p.1-10, nov. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109923>.

NOGUERA-OVIEDO, K., AGA, D. S. Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment. **Journal of Hazardous Materials** 316 (2016) 242–251

PAL, A., GIN, K.Y.H., LIN, A.Y.C., REINHARD, M. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. **Science of the Total Environment** 408. 2010.

PASCHOALINO, F. C. S. **Aplicação de processos oxidativos avançados para substâncias de alta relevância ambiental ou comercial**. 2013. 110 f. Tese (Doutorado) - Curso de Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

PAUL, T., DODD, M. C., STRATHMANN, T. J.. Photolytic and photocatalytic decomposition of aqueous ciprofloxacin: Transformation products and residual antibacterial activity, **Water Research**. v. 44. n. 10. p.3121-3132, maio 2010.

RADIĆ, S. *et al.* The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. **Science Of The Total Environment**, [s.l.], v. 408, n. 5, p.1228-1233, 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.055>.

RANK, J; NIELSEN, M.H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. **Mutation Research/genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis**, v. 418, n. 2-3, p.113-119, 1998. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718\(98\)00118-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00118-1).

RODRÍGUEZ, M. T. T. Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales. **Revista Cubana de Higiene y Epidemiología**, Ciudad de La Habana, v. 41, 2003.

SCHMITZ, A. **Avaliação da genotoxicidade e geração de subprodutos na**

**degradação de ciprofloxacina pelo processos UV-C/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.** 2018. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ambiente e Tecnologias Sustentáveis, Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2018.

SILVA, C. G. A., COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, No 4, 665-676, 2011.

SMAKA-KINCL, V. *et al.* The evaluation of waste, surface and ground water quality using the Allium test procedure. **Mutation Research/genetic Toxicology**, [s.l.], v. 368, n. 3-4, p.171-179, 1996. [http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1218\(96\)90059-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0165-1218(96)90059-2).

SPASIANO, D. *et al.* Solar photocatalysis: Materials, reactors, some commercial, and pre-industrialized applications. A comprehensive approach/ Applied Catalysis. **Environmental** 170-171, p.90–123, 2015.

STARLING, M. C. V.M.; AMORIM, C. C.; LEÃO, M. M. D.. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 372, p.17-36, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.043>.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. **Ecological Effects Test Guidelines Seed Germination / Root Elongation Toxicity Test Public Draft.** Test, 1996.

VENTURA-CAMARGO, B. C.; MARIN-MORALES, M. A. Micronuclei and chromosome aberrations derived from the action of Atrazine herbicide in Allium cepa meristematic cells. **SDRP Journal Of Earth Sciences & Environmental Studies**, [n.i.], v. 1, p.22-28, 2016.

WIECZERZAK, M.; NAMIESNIK, J.; KUDLAK, B.. **Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality:** A review. *Environment International*. v. 94, p. 341-361, 2016.

YANG, Y.; OK, Y.S.; KIM, K.; KWON, E.E.; TSANG, Y. F. Occurrences and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in drinking water and water/sewage treatment plants: A review. **Science of the Total Environment**. 596–597, 303–320. 2017.