

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA  
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA COM ÊNFASE EM  
AMBIENTAL

VÂNIA GUSSO SCHERBATE

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE FOTOCATALISADORES  
DE NIÓBIO EM *DAPHNIA MAGNA* E *ARTEMIA SALINA***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA

2014

VÂNIA GUSSO SCHERBATE

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE FOTOCATALISADORES  
DE NIÓBIO EM *DAPHNIA MAGNA* E *ARTEMIA SALINA***

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2, do Curso de Bacharelado em Química Tecnológica com Ênfase em Ambiental do Departamento Acadêmico de Química e Biologia – DAQBI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Adriane Martins de Freitas

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Roberta Carolina Pelissari Rizzo Domingues

CURITIBA

2014

# TERMO DE APROVAÇÃO

**VÂNIA GUSSO SCHERBATE**

## **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DE FOTOCALISADORES DE NIÓBIO EM *Daphnia magna* e *Artemia salina***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA do Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBi) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e **APROVADO** pela seguinte banca:

**Membro 1** – Prof. Dr. Marcus Vinicius de Liz

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

**Membro 2** – Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Wanessa A. Ramsdorf

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

**Orientadora** - Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriane Martins de Freitas

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

**Co-Orientadora** - Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta C. P. R. Domingues

Departamento Acadêmico de Química e Biologia (UTFPR)

**Coordenadora de Curso** - Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Danielle Caroline Schnitzler (UTFPR)

Curitiba, 26 de agosto de 2014.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Regiane e Sérgio, por me incentivarem durante todo o período acadêmico, pela paciência e compreensão quando tudo estava dando errado, pelo apoio moral e financeiro para a construção das caixas e realização do trabalho e por todos os ensinamentos e felicidades que me proporcionaram até aqui.

Ao meu namorado e engenheiro, Antonio Marcos Calefi, por construir o equipamento que proporcionou a refrigeração das caixas, possibilitando que eu pudesse realizar meus experimentos, e, principalmente, pela força, amor, carinho e apoio nas horas mais difíceis.

Ao meu tio, Valdecir, pelo seu conhecimento em marcenaria que ajudou imensamente na construção das caixas do experimento, pelo timer e por todas as ideias no controle da temperatura.

Às professoras Dr<sup>a</sup> Adriane Martins de Freitas e Dr<sup>a</sup>. Roberta Carolina Pelissari Rizzo Domingues, por aceitarem ser minhas orientadora e co-orientadora, respectivamente, pela dedicação, empenho, carinho e confiança durante todo o desenvolvimento do trabalho.

A minha amiga Carla por todo o apoio durante a graduação, por sempre estar ao meu lado nos momentos bons e ruins e por toda a ajuda no desenvolvimento deste trabalho e de muitos outros.

A todos os professores que ministraram aula nesses cinco anos ao curso de Bacharelado em Química com Ênfase em Ambiental, que nos transmitiram seus conhecimentos.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pela estrutura oferecida.

A todos os professores, amigos e familiares que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, para o início, desenvolvimento e conclusão dessa pesquisa.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”*

José de Alencar

## RESUMO

SCHERBATE, Vânia Gusso. Avaliação da toxicidade aguda de fotocatalisadores de nióbio em *Daphnia magna* e *Artemia salina*. 2014. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Bacharelado em Química com Ênfase Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

O óxido de nióbio ( $Nb_2O_5$ ) é um sólido branco, insolúvel em água e estável. Seus materiais são utilizados em catálise heterogênea puros, como promotores e/ou suportes. Devido à sua acidez, é aplicado em reações catalíticas de: desidratação, hidratação, esterificação, hidrólise, condensação, alquilação, desidrogenação e oxidação. Mesmo que sua atividade fotocatalítica ainda seja pouco explorada, sua toxicidade ao meio ambiente precisa ser avaliada. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda de fotocatalisadores de nióbio, com e sem a presença de luz visível e UVA, utilizando como organismos-teste *Daphnia magna* e *Artemia salina*. Os ensaios consistiram na exposição dos organismos a diversas concentrações dos fotocatalisadores, 50, 100, 250, 450 e 650  $mg.L^{-1}$ , e a toxicidade aguda foi avaliada sob três condições: fotoperíodo com luz UVA (8h/16h), fotoperíodo com luz visível (8h/16h) e ausência de luz. A ausência de luz permitiu avaliar se o composto por si só já é tóxico aos organismos e os tratamentos que utilizaram luz permitiram verificar a sua fototoxicidade. Alguns trabalhos relatam a ausência de toxicidade aguda de vários fotocatalisadores frequentemente estudados em relação à *Daphnia magna*. Porém, a avaliação da fototoxicidade, ou seja, efeitos que a radiação incidente pode gerar, ainda são poucos explorados. Nos testes realizados, nenhum fotocatalisador apresentou toxicidade aguda na ausência de luz e, para os comprimentos de onda utilizados aqui, todos os fotocatalisadores de nióbio utilizados, também não apresentaram toxicidade aguda.

**Palavras – chave:** Microcrustáceo. Radiação UVA. Ensaio Ecotoxicológicos.

## ABSTRACT

SCHERBATE, Vânia Gusso. Acute toxicity evaluation of photocatalysts made from niobium in *Daphnia magna* and *Artemia salina*. 2014. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica com Ênfase Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2014.

The niobium oxide ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) is a white solid, insoluble in water and stable. Its materials are used pure in heterogeneous catalysis, such as promoters and / or carriers. Due to its acidity, is applied to catalytic reactions of dehydration, hydration, esterification, hydrolysis, condensation, alkylation, dehydrogenation, and oxidation. Even if its photocatalytic activity is still unspoiled, its toxicity to the environment needs to be assessed. In this sense, the present work aimed to evaluate the acute toxicity of photocatalysts niobium, with and without the presence of visible light and UVA, using as test organisms *Daphnia magna* and *Artemia salina*. The tests consisted of exposure of organisms to different concentrations of photocatalysts, 50, 100, 250, 450 and 650  $\text{mg L}^{-1}$ , and acute toxicity was evaluated under three conditions: photoperiod with UVA light (8h / 16h), with photoperiod visible light (8h / 16h) and absence of light. The absence of light allowed to assess whether the compound alone is toxic to organisms and the treatments with light allowed to verify its phototoxicity. Some studies report the absence of acute toxicity of various photocatalysts often studied in relation to *Daphnia magna*. However, the assessment of phototoxicity, in other words, the effect that the incident radiation can generate, have been few explored. In the tests performed, no photocatalyst had acute toxicity in the absence of light and, to the wavelengths used here, all niobium photocatalysts, also showed no acute toxicity.

**Keywords:** Microcrustacean. UVA radiation. Ecotoxicological tests.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo de uma partícula de semicondutor, onde BV: banda de valência, e BC: banda de condução.....	17
Figura 2 – Estruturas polimórficas do pentóxido de nióbio. Em (a) forma pseudo-hexagonal (TT-Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ), em (b) forma ortorrômbica (T-Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) e em (c) forma monocíclica (H-Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) - pontos vermelhos representam átomos de oxigênio e pontos azuis átomos de nióbio.....	19
Figura 3 - <i>Daphnia magna</i> .....	22
Figura 4 - <i>Artemia salina</i> .....	24
Figura 5 - Ciclo de vida da <i>Artemia salina</i> .....	25
Figura 6 - Cuba de Ultrassom Cristófoli. ....	27
Figura 7 - Caixas utilizadas para a realização dos testes. Sendo em (a) e (b) a caixa adaptada para a utilização das lâmpadas, com destaque das lâmpadas em (a), e são mostrados em (c) e (d) a caixa para os ensaios no escuro. ....	33
Figura 8 - Equipamentos utilizados para auxiliar no controle da temperatura, sendo em (a) o ar condicionado, em (b) o microcontrolador e em (c) o timer. ....	34
Figura 9 - Espectro de absorção dos fotocatalisadores. ....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais diferenças entre Ecotoxicologia e Toxicologia Clássica .....	15
Tabela 2 - Espécies mais utilizadas para testes ecotoxicológicos em diferentes níveis tróficos .....	20
Tabela 3 – Valores de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) obtidos com o teste preliminar de toxicidade da <i>Daphnia magna</i> frente aos fotocatalisadores.....	35
Tabela 4 - Valores obtidos de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) com o teste de toxicidade da <i>Daphnia magna</i> frente aos fotocatalisadores submetidos à luz visível .....	36
Tabela 5 - Valores obtidos de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) com o teste de toxicidade da <i>Daphnia magna</i> frente aos fotocatalisadores submetidos à luz UVA .....	37
Tabela 6 - Valores obtidos de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) com o teste preliminar de toxicidade da <i>Artemia salina</i> frente aos fotocatalisadores .....	39
Tabela 7 - Valores obtidos de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) com o teste de toxicidade da <i>Artemia salina</i> frente aos fotocatalisadores submetidos à luz visível .....	40
Tabela 8 - Valores obtidos de CE50 (mg.L <sup>-1</sup> ) com o teste de toxicidade da <i>Artemia salina</i> frente aos fotocatalisadores submetidos à luz UVA.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS

BC	Banda de condução
BV	Banda de valência
CE50	Concentração efetiva para 50% da população
DSS	Dodecil sulfato de sódio
GPTec	Grupo de Pesquisa em Tecnologias Avançadas de Tratamento de Águas e Efluentes
POA	Processo Oxidativo Avançado
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
UVA	Radiação Ultravioleta A
UVB	Radiação Ultravioleta B
UVC	Radiação Ultravioleta C
UV-vis	Radiação ultravioleta e visível

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	13
2.1 OBJETIVOS GERAIS .....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	14
3.1 ASPECTOS GERAIS .....	14
3.2 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA.....	16
3.3 ÓXIDO DE NIÓBIO .....	18
3.4 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MEIO HÍDRICO .....	20
3.5 BIOENSAIOS COM <i>DAPHNIA MAGNA</i> .....	21
3.6 BIOENSAIOS COM <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	23
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	26
4.1 FOTOCATALISADORES .....	26
4.2 MONTAGEM DAS CÂMARAS EM MDF .....	26
4.3 AMOSTRAS DE FOTOCATALISADORES TESTADAS.....	26
4.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM <i>DAPHNIA MAGNA</i> .....	28
4.4.1 Teste de sensibilidade e carta controle .....	28
4.4.2 Ensaio preliminares com <i>Daphnia magna</i> .....	29
4.4.3 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda .....	29
4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	30
4.5.1 Eclosão dos cistos e obtenção dos náuplios .....	30
4.5.2 Testes de sensibilidade .....	30
4.5.3 Ensaio preliminares com <i>Artemia salina</i> .....	31
4.5.4 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda .....	31
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS .....	32
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	33
5.1 MONTAGEM DAS CÂMARAS .....	33
5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM <i>DAPHNIA MAGNA</i> .....	34
5.2.1 Ensaio preliminares com <i>Daphnia magna</i> .....	34
5.2.2 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda .....	36
5.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM <i>ARTEMIA SALINA</i> .....	38
5.3.1 Ensaio preliminares com <i>Artemia salina</i> .....	38
5.3.2 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda .....	39
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	45
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	46
<b>ANEXO A</b> .....	53

## 1 INTRODUÇÃO

O nióbio pode ser empregado na composição do aço para torná-lo mais flexível e leve, em foguetes, automóveis, oleodutos, gasodutos e grandes estruturas. O aço inoxidável contendo nióbio é utilizado em escapamento de veículos. Além das aplicações siderúrgicas, ele também pode ser empregado em turbinas de aviões, lentes ópticas, equipamentos de geração de imagens de uso médico (CBMM, 2014) e seu óxido, na fotocatalise heterogênea (SANTANA; MITUSHASI; FERNANDES-MACHADO, 2010).

Alguns estudos avaliaram a eficiência do óxido de nióbio como fotocatalisador, puro ou combinado com o  $\text{TiO}_2$ , na degradação de diversos compostos, como, por exemplo, fenol (SANTANA; FERNANDES-MACHADO, 2002), efluentes de indústria têxtil (SANTANA; MITUSHASI; FERNANDES-MACHADO, 2005), vinhaça (SANTANA; FERNANDES-MACHADO, 2008) e corantes (PRADO *et al.*, 2008), porém, não há estudos sob a toxicidade desses fotocatalisadores.

A reação da fotocatalise ocorre no meio aquoso e, como os fotocatalisadores não são totalmente removidos da solução, acabam sendo lançados nos corpos hídricos juntamente com o efluente tratado. Os fotocatalisadores por si só podem não apresentar toxicidade, porém se fotoativados, este irá gerar radicais hidroxilas que oxidarão outras substâncias do meio, transformando um composto inócuo em tóxico, (NOGUEIRA; JARDIM, 1998) ou ainda com os organismos ali presentes perturbando o sistema biológico (AMIANO *et al.*, 2012).

Na literatura são encontrados trabalhos sobre a avaliação da toxicidade de alguns fotocatalisadores em várias espécies, como por exemplo, a toxicidade do  $\text{ZnO}$  em *Folsomia candida* (KOOL; ORTIZ; GESTEL, 2011), do  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  em *Xenopus laevis* (NATIONS *et al.*, 2011), do  $\text{TiO}_2$  para cladóceros, algas, rotíferos e plantas, entre outros, porém todos os trabalhos realizam a avaliação da toxicidade na ausência de luz. Poucos trabalhos que avaliam a fototoxicidade são encontrados, sendo todos realizados para o  $\text{TiO}_2$ . Amiano e colaboradores (2012) avaliaram a toxicidade para a *Daphnia magna* sob radiação UVA, Marcone e colaboradores (2012), a toxicidade para *Daphnia similis* sob radiação UVA e visível e Dalai e colaboradores (2013) a toxicidade para *Ceriodaphnia dubia* sob radiação visível.

Portanto, este trabalho tem por objetivo avaliar a toxicidade de fotocatalisadores de nióbio, na ausência e na presença de luz, empregando ensaios ecotoxicológicos com os microcrustáceos *Daphnia magna* e *Artemia salina*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a toxicidade e a fototoxicidade aguda de fotocatalisadores de nióbio.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar e otimizar um sistema em MDF (caixas), com controle de temperatura e luminosidade, que permitam a realização dos testes de toxicidade e fototoxicidade adaptados das normas N-2588 (PETROBRÁS, 1996) e NBR 12713 (ABNT, 2009), com e sem radiação.
- Adaptar os protocolos para teste de toxicidade com *Daphnia magna* e *Artemia salina* para acrescentar as radiações UVA e visível para avaliar a toxicidade e fototoxicidade dos fotocatalisadores.
- Avaliar a ecotoxicidade dos fotocatalisadores de nióbio frente à *Daphnia magna* e *Artemia salina* nas três condições de radiação: UVA, visível e escuro.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 ASPECTOS GERAIS

O crescimento populacional fez com que aumentasse a quantidade de recursos naturais utilizados para suprir as necessidades e desejos da humanidade, conseqüentemente, essa atividade fez aumentar a quantidade de resíduos gerados. Além disso, a industrialização trouxe muitos produtos químicos potencialmente tóxicos e a geração de resíduos em quantidades prejudiciais ao meio ambiente (BENDASSOLLI *et al.*, 2003), ou seja, a contaminação ambiental, relacionada às substâncias químicas, é devido à grande industrialização, aumento da utilização de veículos e uso intensivo dos recursos naturais disponíveis (AZEVEDO; CHASIN, 2004).

A poluição ao meio ambiente se tornou mais evidente com o aumento das doenças transmitidas pelos corpos hídricos, devido à falta de saneamento básico e de tratamento dos resíduos líquidos. Somente no ano de 1960 a poluição foi reconhecida internacionalmente por causa dos problemas causados ao homem e ao meio ambiente (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Nas últimas décadas aumentou o interesse do ser humano pelas questões ambientais devido aos vários acidentes, não só regionais, mas também de repercussão mundial, como: o uso indiscriminado do DDT que causou a morte de pássaros nos Estados Unidos; a contaminação por mercúrio, cádmio e bifenilas policloradas (PCB's) no Japão; contaminação por isocianato de metila na Índia e por dioxinas na Itália. Ambos foram responsáveis pela morte de inúmeras pessoas (ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008).

Com base em todos estes acontecimentos, foi observado que o ambiente aquático não é um lugar de diluição infinita da poluição gerada. Assim, surgiu a necessidade do desenvolvimento sustentável e práticas de produção “verde”, as quais evitem o desperdício e gerem menos resíduos (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). Porém, mesmo que as quantidades de resíduos e efluentes gerados tenham sido reduzidas e melhor monitoradas, ainda podem ser prejudiciais ao meio ambiente,

em curto ou longo prazo, sendo assim, há a necessidade de uma área do conhecimento específica para este tipo de análise e esta área é a Ecotoxicologia.

A Ecotoxicologia é uma ciência multidisciplinar que estuda os efeitos tóxicos das substâncias químicas e efluentes industriais sob os organismos vivos, animais ou vegetais, aquáticos ou terrestres, que constituem a biosfera, a entrada e transferência dos poluentes na cadeia trófica e seu destino nos diferentes compartimentos (MANAHAN, 2010; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). É uma junção dos conceitos de Ecologia e de Toxicologia, exigindo ainda algumas noções básicas de Biologia, Química, Bioquímica, Fisiologia, Oceanografia, Limnologia, Estatística, dentre outras. A análise estatística e a modelagem matemática são de fundamental importância para quantificar e prever os efeitos biológicos e determinar sua probabilidade de acontecer nas diferentes condições ambientais (COSTA; OLIVI, 2008). Porém, muitos ainda confundem a Ecotoxicologia com a Toxicologia Clássica. Para diferenciá-las, as principais características são apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1 - Principais diferenças entre Ecotoxicologia e Toxicologia Clássica.**

(continua)

<b>Toxicologia Clássica (mamíferos)</b>	<b>Ecotoxicologia</b>
Objetivo: proteger a espécie de interesse (o homem).	Objetivo: proteger populações e comunidades (aves, plantas, mamíferos e outros organismos, aquáticos e terrestres).
Animais utilizados para proteção do homem: rato, camundongo, coelho, cobaia, etc.	Podem-se utilizar os próprios animais que se pretende proteger.
Como a espécie de interesse é o homem, há menor grau de incerteza na extrapolação de dados.	Não é possível utilizar nos testes todas as espécies existentes, pois o número de organismos existentes é maior e, conseqüentemente, o grau de incerteza na extrapolação dos dados também é maior.
Os organismos teste são homeotérmicos (a temperatura do corpo é uniforme e independente da temperatura do ambiente), portanto, a toxicidade é facilmente previsível.	A extrapolação dos dados de toxicidade é mais difícil devido às variações dos fatores ambientais (por exemplo, dureza das águas, temperatura, pH, etc.).

**Tabela 1 - Principais diferenças entre Ecotoxicologia e Toxicologia Clássica.**

(conclusão)

<b>Toxicologia Clássica (mamíferos)</b>	<b>Ecotoxicologia</b>
A dose do agente químico é calculada e injetada diretamente no indivíduo.	A concentração do agente químico no meio (ar, água, solo ou alimento) é mais variável.
Há muita pesquisa básica nessa área, sendo a ênfase maior dada à compreensão do mecanismo de ação.	Menor quantidade de pesquisa na área, e a maior ênfase são dadas à medida da concentração do agente químico no meio, com vistas às necessidades reguladoras, mecanismos de ação e relação estrutura/atividade.
Metodologia bem desenvolvida, sendo suas limitações e utilização bem conhecidas.	Métodos mais novos, alguns padronizados, outros ainda em desenvolvimento.

**Fonte: ZAGATTO; BERTOLETTI (2008)**

### 3.2 FOTOCATÁLISE HETEROGÊNEA

O maior problema da sociedade moderna é a contaminação do meio ambiente por efluentes, com uma grande quantidade de poluentes químicos, provenientes das mais diversas atividades (NOGUEIRA; JARDIM, 1998). Um exemplo destes poluentes são os corantes sintéticos, que quando lançados no rio, sem tratamento, impedem a realização da fotossíntese pelas plantas aquáticas e ao atingir uma estação de captação e tratamento de água, comprometem o abastecimento populacional (CERVANTES; ZAIA; SANTANA, 2009).

Muitas tecnologias têm sido propostas para remediar águas e efluentes. Dentre as formas alternativas de tratamento, destacam-se os processos oxidativos avançados (POAs). Estes processos se baseiam na formação de radicais hidroxilas ( $\bullet\text{OH}$ ), espécie altamente oxidante, que pode reagir com o composto orgânico promovendo sua completa mineralização (MACEDO *et al.*, 2006). Os POAs se dividem em homogêneos e heterogêneos, podendo citar como heterogêneo a fotocatalise heterogênea, que utiliza semicondutores, especialmente óxidos metálicos. Os semicondutores mais utilizados são: dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ), trióxido de tungstênio ( $\text{WO}_3$ ), trióxido de estrôncio ( $\text{SrO}_3$ ), óxido de ferro III ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) e pentóxido de nióbio ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) (CERVANTES; ZAIA; SANTANA, 2009).

A fotocatalise heterogênea teve sua origem na década de 1970 quando começaram a ser desenvolvidas as células fotoeletroquímicas visando à transformação de luz solar em química para produção de combustíveis. Sua aplicação, como método de destruição de poluentes, foi explorada pela primeira vez em 1983 quando se obteve total mineralização, do clorofórmio e tricloroetileno, para íons inorgânicos quando estes foram expostos a iluminação com uma suspensão de  $\text{TiO}_2$ . Desde então, este método vem sendo amplamente estudado (NOGUEIRA; JARDIM, 1998).

Para a fotocatalise ocorrer precisa haver a ativação de um semicondutor por luz solar ou artificial. Quando um catalisador é exposto à radiação ultravioleta, elétrons são promovidos da banda de valência (BV) para a banda de condução (BC), produzindo uma lacuna na banda de valência e elétrons na banda de condução (RAUF; ASHRAF, 2009; MACEDO *et al.*, 2006).

A energia necessária para promover um elétron da banda de valência para a banda de condução é denominada de “*bandgap*”. Ainda pode haver a reação dos elétrons da banda de condução com  $\text{O}_2$  produzindo o radical de oxigênio  $\text{O}_2^{\cdot-}$  e a reação da lacuna da banda de valência com a água, produzindo radicais hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) (RAUF; ASHRAF, 2009). A competição entre a promoção do elétron e a recombinação do elétron com a lacuna formada é que determinam a eficiência da fotocatalise (NOGUEIRA; JARDIM, 1998; CERVANTES, 2009). A Figura 1 traz um esquema representativo da partícula de um semicondutor.

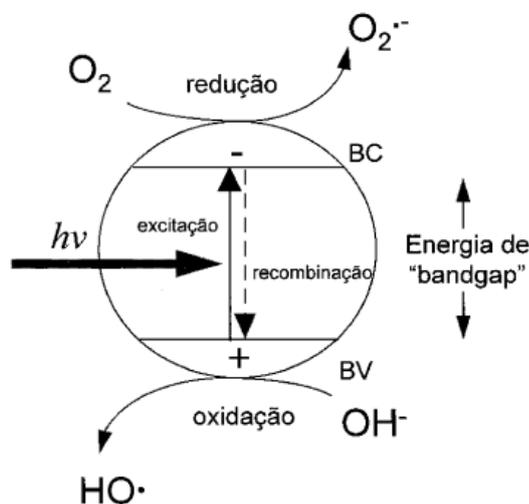


Figura 1 - Esquema representativo de uma partícula de semicondutor, onde BV: banda de valência, e BC: banda de condução. Fonte: NOGUEIRA; JARDIM, 1998.

Segundo Lopes, Paris e Ribeiro (2014), a energia de “*bandgap*” do pentóxido de nióbio varia de 3,1 a 4,0 eV, cujo valor é muito parecido com a do TiO<sub>2</sub>, fotocatalisador mais empregado em fotocatalise, cuja energia de “*bandgap*” é de 3,2 eV, além de possuir alta absorção em todo o espectro de luz. Ao contrário do TiO<sub>2</sub>, seus hidrocolóides não são estáveis, sendo passível de recuperação e reuso.

### 3.3 ÓXIDO DE NIÓBIO

No Brasil, a empresa responsável pela extração e processamento do metal é a CBMM (Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração), localizada em Araxá – Minas Gerais, fundada na década de 50. Além do nióbio metálico, a empresa também comercializa ferronióbio, óxidos e ligas de nióbio de grau vácuo (usado na fabricação de superligas empregadas na fabricação de motores de aeronaves e turbinas terrestres de geração de energia elétrica) (CBMM, 2014).

Segundo Zhao *et al.* (2012) o pentóxido de nióbio existe em muitas formas polimórficas, porém as mais comuns são: a pseudo-hexagonal (TT-Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), a ortorrômbica (T-Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) e a monocíclica (H-Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), sendo a fase menos estável a pseudo-hexagonal e a mais termodinamicamente estável a monocíclica. As formas podem ser alteradas entre si através do tratamento térmico.

Na forma pseudo-hexagonal o átomo de nióbio fica situado no centro de quatro, cinco ou seis átomos de oxigênio no plano *ab*, e, no eixo *c*, são formadas cadeias de estrutura Nb-O-Nb-O. Devido à deficiência de oxigênio por célula, ocorre uma distorção do poliedro. Na forma ortorrômbica, os átomos de nióbio ficam situados entre seis ou sete átomos de oxigênio, levando a formação de octaedros distorcidos ou bipirâmides pentagonais. E, a forma monocíclica é formada por 3x4 e 3x5 blocos de octaedros de NbO<sub>6</sub>, que são ligados por compartilhamento de borda com uma mudança de meia dimensão da célula unitária ao longo do eixo *c* (ZHAO *et al.*, 2012). Todas as estruturas citadas do pentóxido de nióbio podem ser observadas na Figura 2.

O uso do óxido de nióbio como fotocatalisador, puro ou combinado com o TiO<sub>2</sub> ou outros óxidos metálicos, é encontrado na literatura, por exemplo, na degradação de diversos compostos como fenol (SANTANA; FERNANDES-MACHADO, 2002; LAM

*et al.*, 2014), efluentes de indústria têxtil (SANTANA; MITUSHASI; FERNANDES-MACHADO, 2005), vinhaça (SANTANA; FERNANDES-MACHADO, 2008), corantes (PRADO *et al.*, 2008; LOPES; PARIS; RIBEIRO, 2014) e oxidação de  $\alpha$ -feniletanol (YAN *et al.*, 2014).

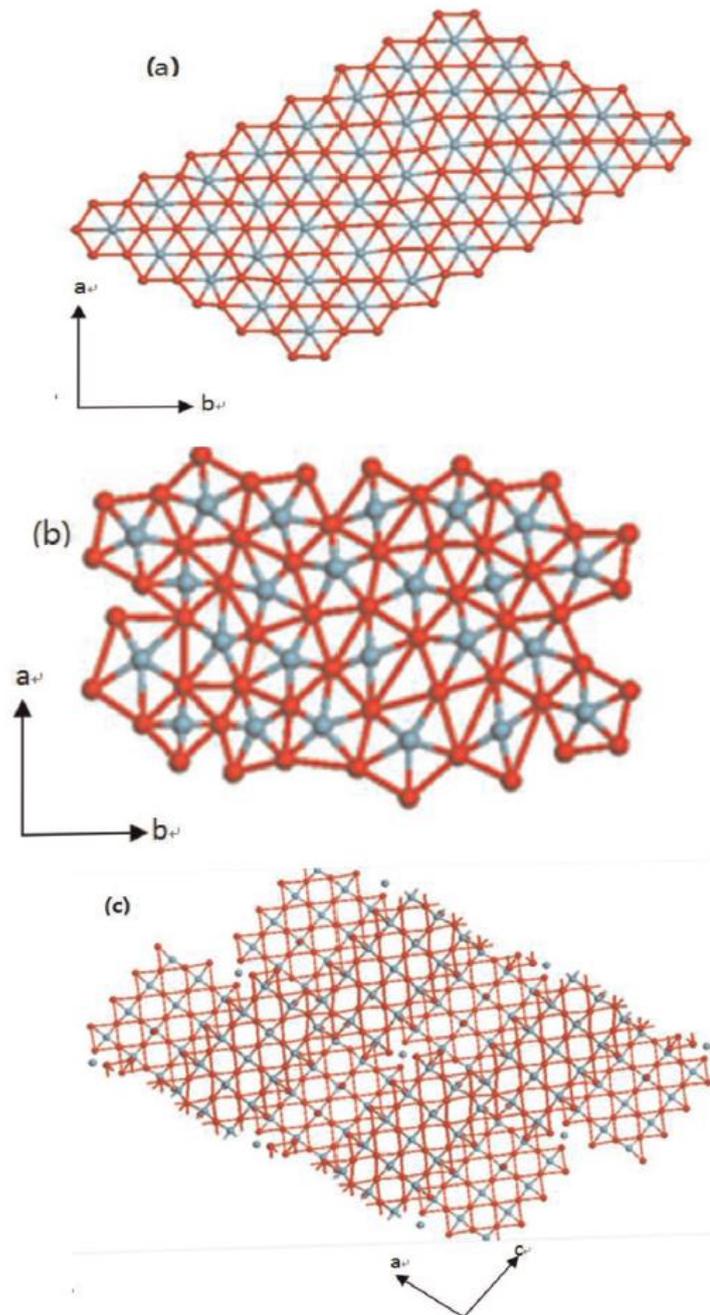


Figura 2 – Estruturas polimórficas do pentóxido de nióbio. Em (a) forma pseudo-hexagonal (TT- $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ), em (b) forma ortorrômbica (T- $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) e em (c) forma monocíclica (H- $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) - pontos vermelhos representam átomos de oxigênio e pontos azuis átomos de nióbio. Fonte: Zhao *et al.*, 2012.

### 3.4 ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS EM MEIO HÍDRICO

Os ensaios ou bioensaios são testes realizados em laboratório para determinar o efeito biológico das substâncias químicas, conhecidas ou desconhecidas, para uma cultura de células vivas ou em um organismo teste. Através destes ensaios pode-se chegar a conclusões como: concentração da substância que causa efeito adverso a 50% dos indivíduos (CE50); se a substância é carcinogênica, teratogênica, desruptor endócrino ou se ela é capaz de se acumular em tecidos específicos ou órgãos (USEPA, 2002).

Os ensaios devem ser realizados com organismos representativos da coluna d'água ou dos sedimentos tanto de água doce, marinha ou estuarina. Tais testes permitem determinar a toxicidade das substâncias químicas, efluentes líquidos, entre outros; estabelecer padrões de qualidade da água; estabelecer limites máximos de lançamento e avaliar o impacto de determinada substância a curto e longo prazo (HAMADA, 2008). O efeito observado em curto prazo é também conhecido como efeito agudo, no qual o organismo é submetido à substância de interesse por um curto período de exposição (até 96 horas) e o efeito deletério se manifesta de forma rápida e severa. Já o efeito de longo prazo também recebe o nome de efeito crônico, com o efeito deletério da substância se manifestando após dias ou anos de exposição (DEZOTTI, 2008). Como não existe uma espécie que atenda a todos os requisitos para todos os ecossistemas, na Tabela 2 são apresentadas algumas das espécies mais utilizadas para ensaios ecotoxicológicos, representantes de diferentes níveis tróficos.

**Tabela 2 - Espécies mais utilizadas para testes ecotoxicológicos em diferentes níveis tróficos.**  
(continua)

<b>Grupo taxonômico</b>	<b>Espécies</b>
Algas de água doce	<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus quadricauda</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>
Algas de água marinha	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Asterionella japônica</i> , <i>Dunaliella tertiolecta</i> , <i>Champia parvula</i>
Microcrustáceos de água doce	<i>Daphnia magna</i> , <i>Daphnia similis</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Hyalella azteca</i>

**Tabela 2 - Espécies mais utilizadas para testes ecotoxicológicos em diferentes níveis tróficos.**  
(conclusão)

<b>Grupo taxonômico</b>	<b>Espécies</b>
Peixes de água doce	<i>Pimephales promelas</i> , <i>Danio rerio</i> , <i>Poecilia reticulata</i> , <i>Oncorhynchus mykiss</i> , <i>Lepomis macrochirus</i>
Peixes de água marinha	<i>Menidia beryllina</i> , <i>Menidia menidia</i> , <i>Cyprinodon variegatus</i>
Insetos de água doce	<i>Chironomus sp.</i> , <i>Hexagenia sp.</i>
Bactérias de água doce	<i>Spirillum volutans</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
Bactérias de água marinha	<i>Vibrio fischeri</i> ( <i>Photobacterium phosphoreum</i> )
Microcrustáceos de água marinha	<i>Mysidopsis bahia</i> , <i>Mysidopsis juniae</i> , <i>Leptocheirus plumulosus</i> , <i>Tiburonella viscana</i> , <i>Artemia salina</i>
Moluscos de água marinha	<i>Mytilus edulis</i> , <i>Crassostrea rhizophorae</i>
Equinodermos	<i>Arbacia lixula</i> , <i>Lytechinus variegatus</i> , <i>Arbacia punctulata</i>

Fonte: ZAGATTO; BERTOLETTI (2008).

Para a expressão dos resultados normalmente são utilizados a concentração letal para 50% dos organismos (CL50), concentração inibitória (CI), concentração efetiva para 50% dos organismos (CE50), concentração de efeito observado (CEO) e concentração de efeito não observado (CENO). Para a expressão do efeito agudo os mais utilizados são o CL50 e CE50. Já a CENO e CEO, são mais utilizados para ensaios de efeito crônico. A CI é utilizada em ambos os ensaios (ROMANELLI, 2004; HAMADA, 2008).

### 3.5 BIOENSAIOS COM *DAPHNIA MAGNA*

Testes utilizando *Daphnia magna* são considerados os mais utilizados internacionalmente para avaliação da toxicidade dos produtos químicos (PERSONNE *et al.*, 2009). O gênero *Daphnia* é muito utilizado em ensaios ecotoxicológicos por seu povoamento representativo na coluna d'água e por serem facilmente cultivados em laboratório devido ao seu pequeno tamanho, requisitando um volume menor de água

de diluição quando comparado com algas e peixes. Ainda, como estes organismos se reproduzem por partenogênese, garante a produção de apenas fêmeas geneticamente idênticas e, conseqüentemente, a obtenção de organismos-testes com uma sensibilidade constante (BROTA, 2012; FREAR; BOYD, 1967). Além disso, em comparação com outros invertebrados de água doce, é relativamente sensível a produtos químicos (RIZZO, 2011; BAIRD, 2002; RADIX *et al.*, 1999; VERSTEEG *et al.*, 1997).

*Daphnia magna* (Figura 3), vulgarmente conhecida como pulga d'água, é um consumidor primário e considerado um organismo grande, se comparado a outros microcrustáceos, medindo de 5 a 6 mm de comprimento, encontrado em lagos, represas, rios e planícies inundadas (KNIE; LOPES, 2004).



**Figura 3 - *Daphnia magna***  
**Fonte: CIÊNCIA HOJE, 2014.**

Quando cultivadas em laboratório são alimentadas com algas verdes como *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Desmodesmus subspicatus* ou *Chlorella* sp (RATTE *et al.*, 2003). Suas pernas torácicas são compostas por cerdas que retêm as algas e então, estas são transferidas para a boca, trituradas pelas mandíbulas e encaminhado para o trato digestivo (KNIE; LOPES, 2004).

Para estabelecer o intervalo das concentrações que serão utilizadas nas análises é realizado um ensaio preliminar, pois com ele é estabelecida a solução teste que causa 100% da imobilidade dos organismos e a que não se observa imobilidade.

Este ensaio pode ser realizado com um período de até 48h e com no mínimo 5 organismos (ABNT, 2009).

Após a obtenção do intervalo da análise, é preparado uma série de soluções teste e um controle com o mesmo número de replicatas, somente com água de diluição e os organismos teste. Para cada diluição e controle se deve adicionar no mínimo 20 organismos e pelo menos duas replicatas. Se for realizar a CE50, devem ser utilizadas cinco soluções teste no mínimo e mais o controle (ABNT, 2009).

O ensaio deve ser realizado por 48 h e com uma temperatura de 18 a 22 °C, em ambiente escuro ou com fotoperíodo de 12 a 16 h de luz difusa, sem a alimentação dos organismos e as soluções testes devem ser preparadas no momento da realização do ensaio, utilizando as quantidades necessárias de amostra e água de diluição (ABNT, 2009).

Depois do período de análise é realizada a contagem dos organismos imóveis em cada recipiente. O resultado pode ser expresso em CE50, para ensaios com soluções de concentração conhecida, ou fator de toxicidade (FT), para amostras que não se conhece a concentração (ABNT, 2009).

Na literatura são encontrados trabalhos que avaliaram a toxicidade aguda de fotocatalisadores com a *Daphnia magna* na ausência de luz, como Santo *et al.* (2014) que avaliaram a toxicidade aguda do ZnO; Zhu, Chang e Chen (2010), Strigul *et al.* (2009) e também Dabrunz *et al.* (2011) que avaliaram a toxicidade do TiO<sub>2</sub>. Na presença de radiação pode-se citar os trabalhos de Amiano *et al.* (2012) e Ma, Brennan e Diamond (2012) que avaliaram a toxicidade aguda do TiO<sub>2</sub> sob radiação UVA e solar, respectivamente.

### 3.6 BIOENSAIOS COM ARTEMIA SALINA

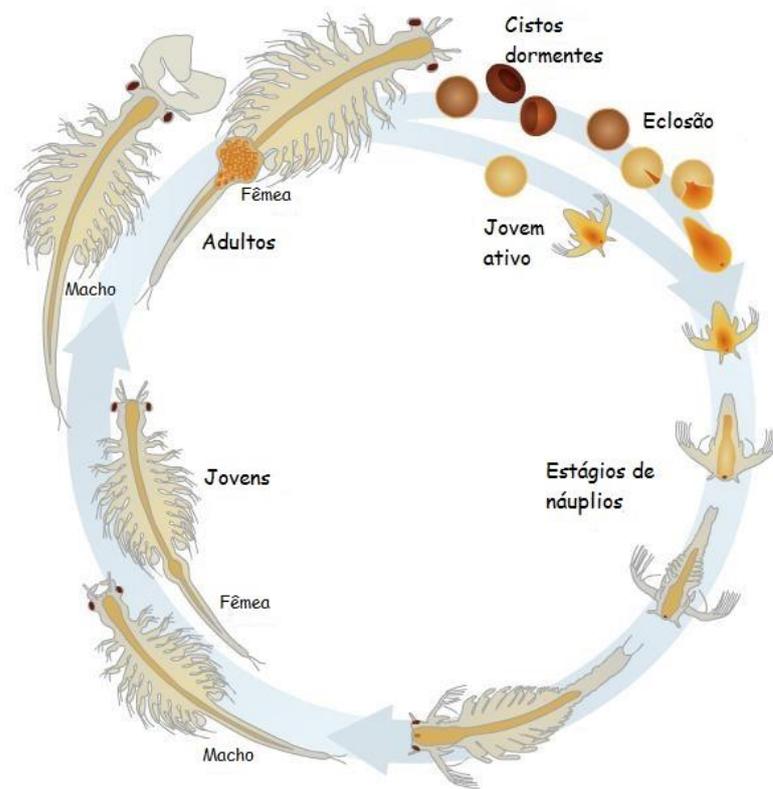
*Artemia salina* é um microcrustáceo de água marinha (Figura 4) que possui grande distribuição do gênero pelo mundo, sendo tal fato atribuído à reprodução partenogênica com produção de cistos. Organismo de fácil manutenção em condições de laboratório e amplamente utilizado em ensaios ecotoxicológicos por ser, assim como a *daphnia*, representativo da coluna d'água (PIMENTEL *et al.*, 2011) e também por gerar uma menor quantidade de resíduos (NUNES *et al.*, 2006).



**Figura 4 - *Artemia salina*.**  
**Fonte: ZONAR, 2014.**

Bioensaios utilizando *Artemia* sp consistem na exposição dos náuplios na fase II ou III (Figura 5), por um período de 24 e/ou 48 horas, a diferentes concentrações da amostra a ser testada, sendo cada concentração testada em triplicata, no mínimo. Após o período de exposição são contados os náuplios imóveis de todos os recipientes. O resultado é expresso como a concentração da amostra que causa a imobilidade em 50% dos organismos-teste, após o período de 24 h e/ou 48 horas (CE50) (PETROBRÁS, 1996).

Juntamente com as concentrações-teste deve ser realizado um grupo controle, onde os organismos-teste são colocados somente em água salina. Por ser um organismo de água marinha, as concentrações-testes também devem ser preparadas com a água salina. Os testes só são validados se o grupo controle não apresentar mortalidade maior que 10% e se a CE50<sub>24h</sub>, com a substância de referência [Dodecil sulfato de sódio (DSS)], estiver entre 13,1 e 30,9 mg.L<sup>-1</sup> (PETROBRÁS, 1996).



**Figura 5 - Ciclo de vida da *Artemia salina*.**  
**Fonte: Adaptado de WILD ABOUT UTAH (2014)**

Na literatura, até onde se pôde investigar, foram encontrados dois trabalhos que avaliaram a toxicidade aguda do fotocatalisador  $\text{TiO}_2$  para o gênero *Artemia*. O trabalho de Ates *et al.* (2013) avalia a toxicidade deste fotocatalisador para a *Artemia salina* sem radiação, e o trabalho de Minetto, Libralato e Ghirardini (2014) que citam um trabalho que avaliou a toxicidade aguda do  $\text{TiO}_2$  para a *Artemia franciscana* sob radiação, porém não é citado o comprimento de onda utilizado.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 FOTOCATALISADORES

Foram empregados três fotocatalisadores à base de nióbio nos ensaios de ecotoxicidade: Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado a 500 °C), ácido nióbico e o dióxido de titânio impregnado com ácido nióbico, e, para comparação, também foram realizados testes com o TiO<sub>2</sub> P25 Degussa, os quais foram fornecidos pelo grupo de pesquisa GPTec (Grupo de Pesquisa em Tecnologias Avançadas de Tratamento de Águas e Efluentes) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

### 4.2 MONTAGEM DAS CÂMARAS EM MDF

Os ensaios de toxicidade e fototoxicidade agudas foram realizados em câmaras montadas de acordo com o trabalho de Marcone *et al.* (2012). As câmaras foram construídas utilizando chapas de MDF (Medium Density Fiberboard) com 1,5 cm de espessura, com 50 x 45 x 35 cm (dimensões internas) e tampa com 53 x 48 x 3,5 cm. Primeiramente, foi instalado um *cooler* XT Axial Fan 120 x 120 x 38 mm para eliminar a interferência do aquecimento causado pelas lâmpadas e auxiliar na ventilação, em seguida um *dimer* para controlar a velocidade do *cooler* e um termômetro digital Digital Thermometer TPM-10. Na parte externa da tampa foi instalado um reator OSRAM EZ-Tronic EZ-A-Plus 2 x 16 W Bivolt-T8 e, na parte interna, suportes para encaixe das lâmpadas.

### 4.3 AMOSTRAS DE FOTOCATALISADORES TESTADAS

As amostras dos fotocatalisadores foram preparadas com água de diluição para ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia magna* (ABNT, 2009) e em água salina

para ensaios com *Artemia salina* (PETROBRÁS, 1996), onde as devidas quantidades de cada reagente foram adicionadas às respectivas águas, preparando concentrações de 50 a 650 mg.L<sup>-1</sup>. Para uma melhor homogeneização das amostras, devido o material ser insolúvel e permanecer em suspensão, as soluções foram submetidas ao banho de ultrassom, em Cuba de Ultrassom Cristófoli (Figura 6), por 30 minutos.



**Figura 6 - Cuba de Ultrassom Cristófoli.**

As amostras submetidas ao espectrofotômetro UV-Vis foram preparadas com água de osmose reversa, onde foram preparados 100 mL de solução para cada fotocatalisador nas concentrações de 50 mg.L<sup>-1</sup> para o TiO<sub>2</sub>, 100 mg.L<sup>-1</sup> para o Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.nH<sub>2</sub>O e para o Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 250 mg.L<sup>-1</sup> para TiO<sub>2</sub>/Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Todas foram submetidas ao banho de ultrassom, para melhor homogeneização da amostra, por 30 minutos. Foram utilizadas estas concentrações dos fotocatalisadores, pois foram as que apresentaram uma melhor absorvância nas avaliações preliminares.

Depois de preparadas as soluções, estas foram transferidas para uma cubeta de quartzo e esta foi inserida em um Espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50, para analisar a absorvância das amostras.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM *DAPHNIA MAGNA*

Os organismos utilizados para os testes foram fornecidos pelo Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, cultivados seguindo os protocolos estabelecidos pela NBR 12713 (ABNT, 2009). A alimentação das dáfrias foi realizada com a alga *Desmodesmus subspicatus* uma vez ao dia. Os recipientes com os organismos foram mantidos em temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo (claro/escuro) de 12/12 horas. Os microcrustáceos tiveram sua sensibilidade monitorada quinzenalmente com solução de dicromato de potássio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ).

A solução de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  é uma das substâncias de referência, as quais são utilizadas como cartas-controle, para garantir a qualidade analítica dos estudos com testes agudos de toxicidade e também avaliar as alterações sazonais na sensibilidade dos organismos, aumentando a confiabilidade dos dados gerados (USEPA, 2002; ZAGATTO; BERTOLETTI, 2008). Segundo a norma ISO 6341 (1996), os valores limites para a sensibilidade da *Daphnia magna* com o dicromato de potássio são na faixa de 0,6 a 1,7  $\text{mg.L}^{-1}$  de CE50 em 24 horas (KNIE; LOPES, 2004; ISO, 1996).

##### 4.4.1 Teste de sensibilidade e carta controle

Foram preparadas 7 concentrações de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , (0,36, 0,47, 0,62, 0,82, 1,07, 1,41 e 1,86  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Após, foram transferidos 20 mL de cada concentração para béquer de 50 mL, sendo cada concentração feita em triplicata. Também foi realizado, em triplicata, um grupo controle somente com água de diluição. Por último, foi acrescentado em cada béquer 10 organismos com até 24 horas de idade. Os béqueres foram colocados em uma bandeja, cobertos com papel alumínio e em seguida encaminhados para a BOD por 24 horas no escuro. Terminado o período de teste foi realizada a contagem dos organismos imóveis. Sendo o teste validado somente se, no grupo controle, a imobilidade não ultrapassar 10% (ABNT, 2009).

#### 4.4.2 Ensaio preliminares com *Daphnia magna*

Foram preparadas 5 concentrações dos fotocatalisadores (50, 100, 250, 450 e 650 mg.L<sup>-1</sup>). Em seguida, essas soluções foram submetidas ao banho de ultrassom por 30 minutos. Após, com auxílio de pipeta volumétrica e pipetador, foram transferidos 15 mL de cada concentração para béquer de 50 mL, sendo cada concentração feita em triplicata. Também foi realizado, em triplicata, um grupo controle somente com água de diluição. Por último, foi acrescentado em cada béquer 5 organismos com até 24 horas de idade. Os béqueres foram colocados em uma bandeja, cobertos com papel alumínio e em seguida encaminhados para a BOD por 48 horas no escuro. Terminado o período de teste foi realizada a contagem dos organismos imóveis. Sendo o teste validado somente se, no grupo controle, a imobilidade não ultrapassar 10%.

#### 4.4.3 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda

Para a avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda foram realizados testes em três condições: sob radiação UVA, radiação visível e ausência de luz. Para a análise do efeito da radiação UVA foram utilizadas duas lâmpadas fluorescentes UVA de 15 W cada (Sylvania fluorescente T-8 blacklight Blue) e para a radiação visível duas lâmpadas fluorescentes extra luz do dia também de 15 W cada (Philips temperatura de cor de 5000 K).

Os ensaios de toxicidade e fototoxicidade aguda seguiram os protocolos da norma NBR 12713 (ABNT, 2009), como mencionado anteriormente, porém com algumas modificações (radiação incidente e quantidade de organismos). Cada concentração e o controle (somente água de diluição) foram realizados em triplicata. O teste só foi validado quando no controle não ultrapassou o percentual de 10% de organismos imóveis.

Foram colocados 5 organismos neonatos (com até 24 horas de idade) em cada béquer de 50 mL, contendo 15 mL das soluções preparadas, pois a radiação precisará atingir o material decantado e em suspensão. Estando pronto os recipientes,

estes foram colocados nas caixas. O experimento foi realizado em uma temperatura de  $20 \pm 2$  °C e teve duração de 48 horas, onde os ensaios sob radiação foram realizados com fotoperíodo (luz/escuro) de 8/16 h e os ensaios no escuro permaneceram as 48 horas sem luz.

#### 4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM *ARTEMIA SALINA*

##### 4.5.1 Eclosão dos cistos e obtenção dos náuplios

A obtenção dos náuplios e os testes de toxicidade seguiram a norma N-2588 da Petrobrás (1996) com pequenas alterações. Em um béquer de 1 L foi pesado 7,5 g do sal marinho Tropic Marin, adicionou-se, com o auxílio de uma proveta, 250 mL de água deionizada e deixou sob aeração por 15 minutos. Em seguida, transferiu-se a água salina do béquer de 1 L para um de 250 mL e acrescentou uma ponta de espátula (aproximadamente 0,125 g) de cistos de *Artemia salina*, embrulhando o béquer com papel alumínio e deixando-o em estufa por 24 horas a uma temperatura de 25°C.

Passado às 24 horas, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foi realizado a separação dos náuplios dos cistos, sendo os náuplios colocados em outro béquer de 250 mL contendo 250 mL de solução salina previamente aerada. O béquer com os náuplios foi novamente embrulhado com papel alumínio e colocado em estufa por 24 horas a temperatura de 25°C.

##### 4.5.2 Testes de sensibilidade

A fim de avaliar a sensibilidade dos náuplios para realização dos bioensaios, foram preparadas 6 concentrações do dodecil sulfato de sódio (9, 12, 16, 21, 27 e 35 mg.L<sup>-1</sup>), e um grupo controle, com a água salina. Em seguida, com auxílio de uma

micropipeta, foram transferidos 10 organismos, com até 48 horas de idade, para cada poço das placas de 24 poços e estes preenchidos com 2 mL de cada concentração. O teste foi realizado em quadruplicata. As placas foram colocadas em estufa por 24 horas no escuro, após esse período foi realizada a contagem dos organismos imóveis.

#### 4.5.3 Ensaio preliminares com *Artemia salina*

Em água salina, foram preparadas 5 concentrações dos fotocatalisadores, 50, 100, 250, 450 e 650 mg.L<sup>-1</sup>. Em seguida, essas soluções foram submetidas ao banho de ultrassom por 30 minutos. Após, com auxílio de uma micropipeta, foram transferidos 10 organismos, com até 48 horas de idade, para cada poço das placas de 24 poços e estes preenchidos com 2 mL de cada concentração e também, uma coluna de poços, com água salina para o grupo controle, sendo todos feitos em quadruplicata. As placas foram colocadas em estufa por 48 horas no escuro, sendo realizada a contagem dos organismos imóveis com 24 e 48 horas de teste. O teste foi validado somente quando, no grupo controle, a imobilidade não ultrapassou de 10% e o teste de sensibilidade com o DSS apresentou CE50<sub>24h</sub> entre 13,1 e 30,9 mg.L<sup>-1</sup> (PETROBRÁS, 1996).

#### 4.5.4 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda

Para a avaliação da toxicidade foram realizados testes em três condições: sob radiação UVA, radiação visível e ausência de luz. As câmaras e lâmpadas foram as mesmas descritas nos itens 5.2 e 5.4.3, respectivamente.

Os ensaios de toxicidade aguda seguiram os protocolos da N-2588 (PETROBRÁS, 1996), porém com a modificação da utilização da radiação incidente. Cada concentração e o controle (somente água salina) foram realizados em quadruplicata. No controle não deverá ser ultrapassado o percentual de 10% de organismos imóveis, caso isto ocorra o teste não será validado e deve-se realizar um novo.

Em água salina, foram preparadas 5 concentrações dos fotocatalisadores (50, 100, 250, 450 e 650 mg.L<sup>-1</sup>). Em seguida, essas soluções foram submetidas ao banho de ultrassom por 30 minutos. Após, com auxílio de uma micropipeta, foram transferidos 10 organismos, com até 48 horas de idade, para cada poço das placas e estes preenchidos com 2 mL de cada concentração e também com água salina para o grupo controle, sendo todos feitos em quadruplicata. As placas foram colocadas na caixa por 48 horas, com fotoperíodo de 8/16 h (luz/escuro), sendo realizada a contagem dos organismos imóveis com 24 e 48 horas de teste. O teste foi validado somente quando, no grupo controle, a imobilidade não ultrapassou de 10% e o teste de sensibilidade com o DSS apresentou CE50<sub>24h</sub> entre 13,1 e 30,9 mg.L<sup>-1</sup>.

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Para o cálculo da CE50 dos fotocatalisadores com nióbio testados e elaboração de gráficos, foi utilizado um programa estatístico e gráfico, respectivamente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 MONTAGEM DAS CÂMARAS

As câmaras prontas são apresentadas na Figura 7. Porém, em testes preliminares, com a lâmpada, observou-se que apenas o *cooler* não proporcionava a refrigeração necessária, assim sendo, foi acoplado um ar condicionado Springer Carrier QQA105BBB (Figura 8 a), um microcontrolador Arduino Mega (Figura 8 b) para controlar o ar condicionado e, para maior conforto, um *timer* ICEL TI 10 (Figura 8 c) para ligar e desligar as lâmpadas.

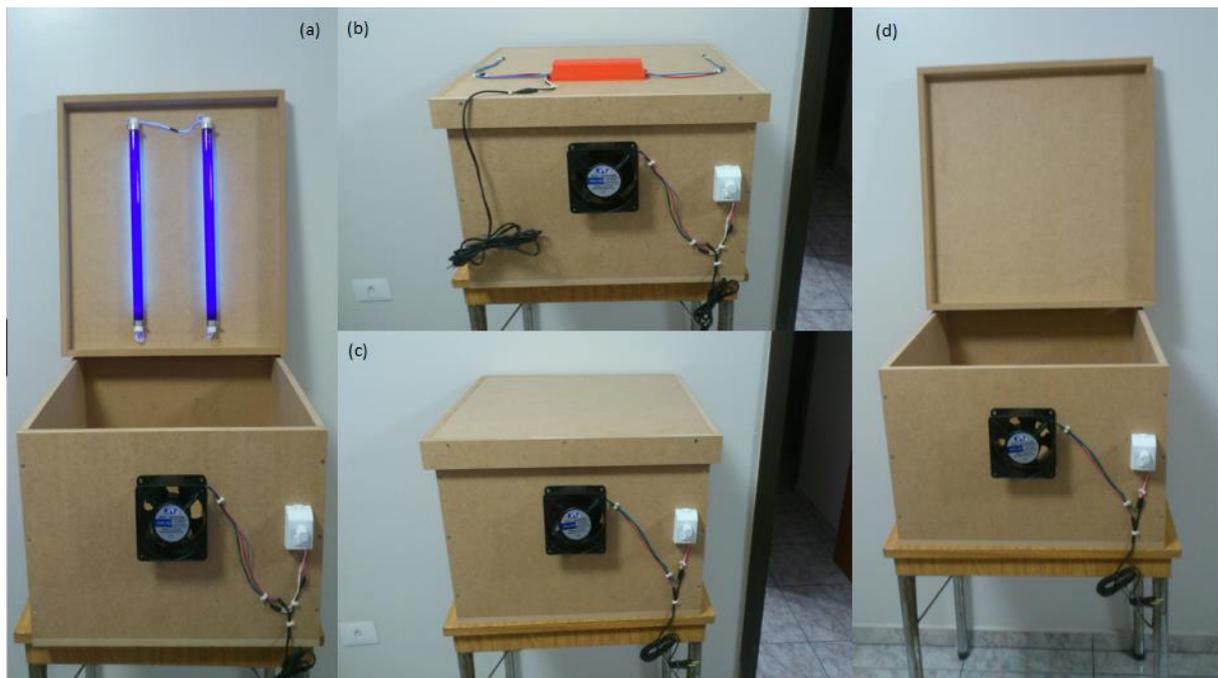


Figura 7 - Caixas utilizadas para a realização dos testes. Sendo em (a) e (b) a caixa adaptada para a utilização das lâmpadas, com destaque das lâmpadas em (a), e são mostrados em (c) e (d) a caixa para os ensaios no escuro.

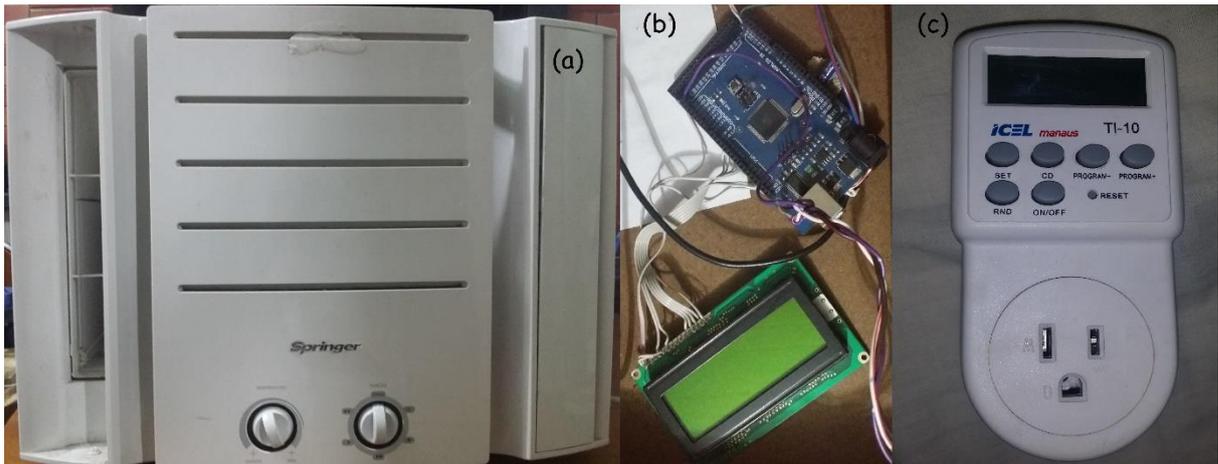


Figura 8 - Equipamentos utilizados para auxiliar no controle da temperatura, sendo em (a) o ar condicionado, em (b) o microcontrolador e em (c) o timer.

Com a adição desses equipamentos não foi necessário utilizar o *cooler*, o *dimmer* e o termômetro, pois a saída de ar do ar condicionado foi adaptada para o local onde ficava o cooler e o microcontrolador, através do sensor de temperatura ligado a ele, controlava a temperatura em que o ar condicionado deveria ligar e desligar para manter a temperatura no interior da caixa no intervalo de 18 a 22 °C. Para maior conforto e exatidão no tempo de luminosidade, foi acrescentado o *timer*.

## 5.2 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM *DAPHNIA MAGNA*

### 5.2.1 Ensaios preliminares com *Daphnia magna*

Os testes de sensibilidade (carta controle no Anexo A) revelaram uma CE50 de 0,92 mg.L<sup>-1</sup> para o dicromato de potássio, indicando que os organismos utilizados nos ensaios se encontram dentro da faixa de sensibilidade esperada (CE50 de 0,6 a 1,7 mg.L<sup>-1</sup>) para o composto de referência, conforme ISO 6341 (ISO, 1996).

Os resultados obtidos para os ensaios preliminares de todos os fotocatalisadores estão apresentados na Tabela 3.

Com base nos dados obtidos foi calculada a CE50 para cada fotocatalisador, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>. Devido à dificuldade para homogeneização da amostra com a maior concentração utilizada, optou-se por manter as concentrações para os testes com as luzes UVA e visível. Outro ponto que contribuiu para a escolha foi o fato das substâncias serem fotocatalisadores, as quais, quando submetidas à radiação, principalmente à UV, geram espécies reativas de oxigênio (EROs), como os radicais hidroxila, as quais podem reagir com os organismos no meio, promovendo aumento na toxicidade da substância analisada.

**Tabela 3 - Valores de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) obtidos com o teste preliminar de toxicidade da *Daphnia magna* frente aos fotocatalisadores**

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)			CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
<b>Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado 500°C)</b>	0 (controle)	0	0	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	0	0	0	
<b>Ácido nióbico</b>	0 (controle)	0	1	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	2	2	0	
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0 (controle)	0	0	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	1	0	0	
	450	0	0	0	
	650	1	2	3	
<b>TiO<sub>2</sub> impregnado com Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	0 (controle)	0	0	1	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	1	
	650	0	0	0	

### 5.2.2 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda

Os resultados obtidos com os ensaios para todos os fotocatalisadores com a luz visível são apresentados na Tabela 4 e com a luz UVA na Tabela 5. Como foram mantidas as concentrações da avaliação preliminar, estes foram considerados como o teste a ser realizado no escuro.

Com base nos dados da Tabela 4 foi calculada a CE50 para os fotocatalisadores submetidos à luz visível, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>, com exceção do TiO<sub>2</sub> que apresentou uma CE50 = 590, 47 mg.L<sup>-1</sup>.

Com base nos dados da Tabela 5 foi calculada a CE50 para os fotocatalisadores submetidos à luz UVA, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>, com exceção do TiO<sub>2</sub> que apresentou uma CE50 < 50 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tabela 4 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Daphnia magna* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz visível.**

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)			(continua) CE50
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	(mg.L <sup>-1</sup> )
<b>Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado 500°C)</b>	0 (controle)	0	0	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	0	0	0	
<b>Ácido nióbio</b>	0 (controle)	0	1	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	1	1	
	650	0	2	0	
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0 (controle)	0	0	0	590, 47
	50	0	0	1	
	100	1	1	0	
	250	1	1	2	
	450	2	4	4	
	650	3	2	3	

Tabela 4 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Daphnia magna* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz visível.

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)			(conclusão) CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
TiO <sub>2</sub> impregnado com Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0 (controle)	0	0	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	0	0	0	

Tabela 5 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Daphnia magna* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz UVA.

Fotocatalisador	Concentrações (mg L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)			(continua) CE50 (mg L <sup>-1</sup> )
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
Nb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (calcinado 500°C)	0 (controle)	0	0	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	0	0	0	
Ácido nióbio	0 (controle)	0	1	0	> 650
	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	
	450	0	0	0	
	650	2	2	0	
TiO <sub>2</sub>	0 (controle)	0	0	0	< 50
	50	5	5	5	
	100	5	5	5	
	250	5	5	5	
	450	5	5	5	
	650	5	5	5	

Tabela 5 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Daphnia magna* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz UVA.

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)			(conclusão) CE50
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	(mg.L <sup>-1</sup> )
	0 (controle)	0	0	0	
<b>TiO<sub>2</sub> impregnado com Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	50	0	0	0	
	100	0	0	0	
	250	0	0	0	> 650
	450	0	0	0	
	650	0	1	0	

### 5.3 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA DOS FOTOCATALISADORES EM ARTEMIA SALINA

#### 5.3.1 Ensaios preliminares com *Artemia salina*

Os testes de sensibilidade revelaram uma CE50 de 27,6 mg.L<sup>-1</sup> para o dodecil sulfato de sódio (DSS), indicando que os organismos utilizados nos ensaios se encontram dentro da faixa de sensibilidade esperada (CE50 de 13,1 a 30,9 mg.L<sup>-1</sup>) para o composto de referência, conforme N-2588 (PETROBRÁS, 1996).

Os resultados obtidos para os ensaios preliminares de todos os fotocatalisadores são apresentados na Tabela 6.

Com base nos dados obtidos foi calculada a CE50 para cada fotocatalisador, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>. Devido à dificuldade para homogeneização da amostra com a maior concentração utilizada e por serem fotocatalisadores que são substâncias fotoativadas pela radiação, como já explicado anteriormente, optou-se por manter as concentrações para os testes com as luzes UVA e visível.

Tabela 6 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste preliminar de toxicidade da *Artemia salina* frente aos fotocatalisadores

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)				CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	
<b>Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado 500°C)</b>	0 (controle)	0	0	0	0	> 650
	50	0	0	1	1	
	100	0	1	0	0	
	250	1	1	0	0	
	450	0	1	0	0	
	650	1	1	2	1	
<b>Ácido nióbio</b>	0 (controle)	0	0	1	1	> 650
	50	1	1	1	0	
	100	1	1	1	0	
	250	0	1	0	0	
	450	1	1	0	0	
	650	1	1	1	1	
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0 (controle)	1	0	0	0	> 650
	50	1	1	2	1	
	100	3	3	2	2	
	250	3	2	2	3	
	450	3	3	2	2	
	650	3	2	3	3	
<b>TiO<sub>2</sub> impregnado com Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	0 (controle)	1	1	0	0	> 650
	50	0	0	1	0	
	100	1	0	0	0	
	250	0	0	1	0	
	450	0	1	1	0	
	650	1	0	1	0	

### 5.3.2 Avaliação da toxicidade e fototoxicidade aguda

Os resultados obtidos com os ensaios para todos os fotocatalisadores com a luz visível são apresentados na Tabela 7 e com a luz UVA na Tabela 8. Como foram mantidas as concentrações da avaliação preliminar, estes foram considerados como o teste a ser realizado no escuro.

Com base nos dados da Tabela 7 foi calculada a CE50 para os fotocatalisadores submetidos à luz visível, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>, com exceção do TiO<sub>2</sub> que apresentou uma CE50 = 636,19 mg.L<sup>-1</sup>.

Com base nos dados da Tabela 8 foi calculada a CE50 para os fotocatalisadores submetidos à luz UVA, onde todos apresentaram uma CE50 > 650 mg.L<sup>-1</sup>, com exceção do TiO<sub>2</sub> que apresentou uma CE50 < 50 mg.L<sup>-1</sup>.

**Tabela 7 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Artemia salina* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz visível.**

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)				CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )
		Réplica	Réplica	Réplica	Réplica	
		1	2	3	4	
<b>Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado 500°C)</b>	0 (controle)	1	0	1	0	> 650
	50	1	1	2	2	
	100	3	2	2	1	
	250	4	3	3	4	
	450	4	3	4	5	
	650	4	4	4	4	
<b>Ácido nióbio</b>	0 (controle)	2	0	0	0	> 650
	50	4	3	3	1	
	100	4	4	3	4	
	250	4	4	3	4	
	450	5	3	4	4	
	650	4	5	3	4	
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0 (controle)	0	0	1	1	636,19
	50	2	1	2	3	
	100	1	1	3	3	
	250	3	3	4	4	
	450	4	3	6	5	
	650	5	5	6	5	
<b>TiO<sub>2</sub> impregnado com Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	0 (controle)	1	0	1	0	> 650
	50	0	0	0	1	
	100	1	0	0	0	
	250	0	1	0	0	
	450	0	0	1	0	
	650	0	1	0	0	

Tabela 8 - Valores obtidos de CE50 (mg.L<sup>-1</sup>) com o teste de toxicidade da *Artemia salina* frente aos fotocatalisadores submetidos à luz UVA.

Fotocatalisador	Concentrações (mg.L <sup>-1</sup> )	Número organismos imóveis (48 h)				CE50 (mg.L <sup>-1</sup> )
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Réplica 4	
<b>Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (calcinado 500°C)</b>	0 (controle)	0	0	1	1	> 650
	50	2	1	3	1	
	100	0	2	1	4	
	250	3	3	3	2	
	450	4	2	3	3	
	650	5	4	4	4	
<b>Ácido nióbio</b>	0 (controle)	0	1	1	0	> 650
	50	3	1	1	3	
	100	2	4	0	2	
	250	2	2	1	5	
	450	4	3	1	2	
	650	3	4	4	3	
<b>TiO<sub>2</sub></b>	0 (controle)	0	1	0	0	< 50
	50	5	5	5	5	
	100	10	9	9	9	
	250	10	10	10	10	
	450	10	10	10	10	
	650	10	10	10	10	
<b>TiO<sub>2</sub> impregnado com Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	0 (controle)	0	1	0	0	> 650
	50	1	1	0	1	
	100	0	1	1	1	
	250	2	1	2	0	
	450	2	1	2	1	
	650	2	2	1	2	

Nenhum dos fotocatalisadores avaliados apresentou toxicidade na ausência de luz, cujo resultado está de acordo com a literatura para o TiO<sub>2</sub> (não foram encontrados trabalhos similares para os fotocatalisadores de nióbio). Wiench *et al.* (2009) observaram uma CE50 > 100 mg.L<sup>-1</sup> para nanopartículas de TiO<sub>2</sub> com a superfície coberta e sem cobertura. Zhu, Chang e Chen (2010), Warheit *et al.* (2007) e Marcone (2011) observaram uma CE50 > 100 mg.L<sup>-1</sup> para diferentes tamanhos de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (19, 20, 25, 33, 100, 150, 200 nm). Strigul *et al.* (2009)

mostraram uma  $CE_{50} > 250 \text{ mg.L}^{-1}$ . Todos os dados apresentados são referentes à toxicidade ao gênero *Daphnia*.

Ates *et al.* (2013) avaliaram a toxicidade do dióxido de titânio no escuro para *Artemia salina*, tanto em náuplios e adultos, por um período de 24 e 96 horas e obtiveram uma  $CE_{50} > 100 \text{ mg.L}^{-1}$ . Heinlaan *et al.* (2008) observaram uma  $CE_{50} > 20000 \text{ mg.L}^{-1}$  do dióxido de titânio para a bactéria *Vibrio fischeri* e para o crustáceo *Thamnocephalus platyurus*. Aruoja e colaboradores (2009) encontraram uma  $CE_{50} = 35,9 \text{ mg.L}^{-1}$  para a alga *Pseudokirchneriella subcapitata* quando exposta ao dióxido de titânio por 72 horas.

Lovern e Klaper (2006) apresentaram que o  $TiO_2$  sonicado com as concentrações de 50 a  $500 \text{ mg.L}^{-1}$  não foi tóxico para a *Daphnia magna*, porém quando a solução foi filtrada mostrou uma  $CE_{50} = 5,5 \text{ mg.L}^{-1}$ . Segundo Jiang *et al.* (2011) e Reeves *et al.* (2008), nanopartículas menores em concentrações baixas são mais tóxicas que as maiores em alta concentração para os organismos aquáticos, pois penetram mais facilmente nas células, causando danos via geração de EROs.

Com base nos trabalhos citados, com experimentos no escuro, pode-se concluir que o tamanho das partículas dos fotocatalisadores, nas concentrações utilizadas, não foram tóxicas para o microcrustáceo *Daphnia magna* nem para a *Artemia salina*. Porém, sabe-se que substâncias semicondutoras, quando fotoativadas pela radiação UV, geram espécies reativas de oxigênio, as quais causam danos aos microrganismos, fazendo com que, além do tamanho de partícula, o efeito da fotoatividade seja um fator importante na avaliação da toxicidade de tais substâncias.

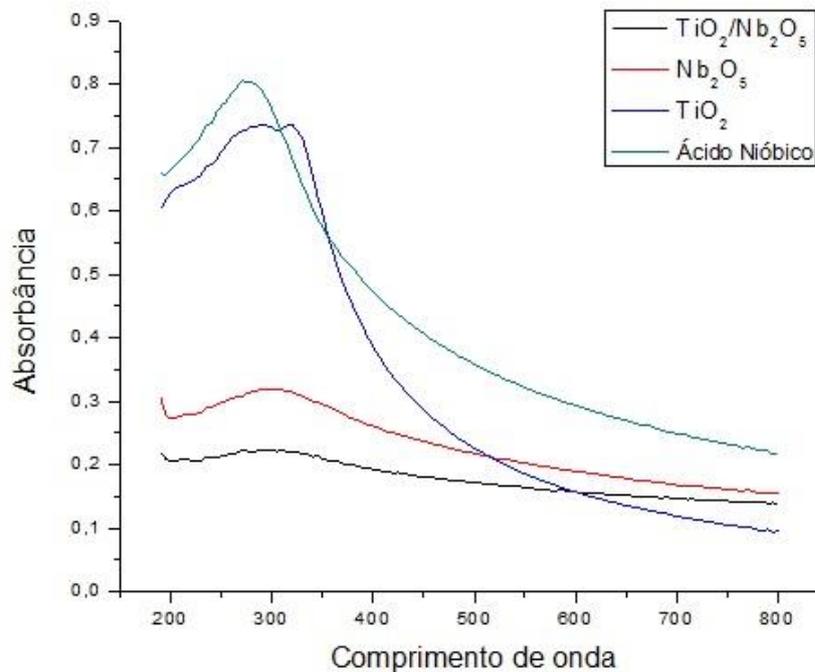
Neste trabalho, não foi observada fototoxicidade para os fotocatalisadores de nióbio nos ensaios sob radiação, porém o  $TiO_2$  apresentou uma  $CE_{50} < 50 \text{ mg.L}^{-1}$  para os ensaios sob radiação UVA e  $CE_{50} = 590,47 \text{ mg.L}^{-1}$  sob radiação visível, para os ensaios com *Daphnia magna*. Já para os ensaios com *Artemia salina*, o  $TiO_2$  também apresentou uma  $CE_{50} < 50 \text{ mg.L}^{-1}$  para os ensaios sob radiação UVA e  $CE_{50} = 636,19 \text{ mg.L}^{-1}$  para os ensaios com luz visível. Novamente não foram encontrados trabalhos similares na literatura para os fotocatalisadores de nióbio, porém os resultados para o  $TiO_2$  estão de acordo com a literatura.

Marcone *et al.* (2012) observaram uma  $CE_{50} < 20 \text{ mg.L}^{-1}$  do  $TiO_2$  Degussa (30% rutila e 70% anatase) para *Daphnia similis* sob a radiação UVA. Já Amiano *et al.* (2012) encontraram uma  $CE_{50} < 10 \text{ mg.L}^{-1}$  para a nanopartícula de  $TiO_2$  para *Daphnia*

*magna*. Nos testes para radiação visível Marcone *et al.* (2012) observaram uma  $CE50 > 100 \text{ mg.L}^{-1}$  do  $\text{TiO}_2$  Degussa para a *Daphnia similis* e Dalai *et al.* (2013) observaram uma  $CE50 = 8,26 \text{ mg.L}^{-1}$  de nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  para a *Ceriodaphnia dubia*. Minetto, Libralato e Ghirardini (2014) relataram uma  $CE50_{(24h)} = 23,13 \text{ mg.L}^{-1}$  para a *Artemia franciscana* sob radiação, porém no trabalho não foi especificado o comprimento de onda empregado.

Os resultados obtidos, com este trabalho, podem ser explicados pela obtenção do comprimento de onda adequado para promover a fotoativação, por isso amostras de todos os fotocatalisadores foram submetidas à análise por espectroscopia ultravioleta-visível em Espectrofotômetro Varian, modelo Cary 50.

Ao serem analisadas as amostras no Espectrofotômetro UV-Vis no intervalo de 190 a 800 nm (Figura 9), foi possível observar que a maior absorção para o ácido nióbio ocorreu em 270 nm, para o dióxido de titânio e o pentóxido de nióbio 290 nm e para a mistura  $\text{TiO}_2/\text{Nb}_2\text{O}_5$  310 nm, sendo utilizadas as concentrações de 100, 50, 100 e 250  $\text{mg.L}^{-1}$ , respectivamente. O mesmo pico de absorção foi encontrado por Martínez *et al.* (2011) para o  $\text{TiO}_2$ .



**Figura 9 - Espectro de absorção dos fotocatalisadores.**

Segundo a ISO 21348 (2007), a região do ultravioleta abrange uma região de comprimento de onda de  $100 \leq \lambda < 400$  nm, podendo esta ser subdividida em outras três: ultravioleta A ou UVA ( $315 \leq \lambda < 400$  nm), ultravioleta B ou UVB ( $280 \leq \lambda < 315$  nm) e ultravioleta C ou UVC ( $100 \leq \lambda < 280$  nm). Uma vez que a lâmpada UVA utilizada para os testes abrange uma região de 315 a 430 nm (informações do fabricante), pode-se atribuir a ausência de toxicidade dos fotocatalisadores ácido nióbico,  $Nb_2O_5$  e  $TiO_2/Nb_2O_5$  ao fato de não terem sido fotoativados e, conseqüentemente, não liberando os radicais no meio, ou, se houve a fotoativação, esta não foi suficiente para causar toxicidade aos organismos do meio. Já o  $TiO_2$  expressou sua toxicidade devido sua grande banda de absorção (aproximadamente entre 278 – 355 nm), a qual abrange praticamente metade do espectro emitido pela lâmpada utilizada e por permanecer mais tempo em suspensão, devido ao fato do mesmo ser mais fino e leve que os demais, permitindo que este fique um maior tempo em contato com a radiação.

A região da radiação visível abrange, segundo a ISO 21348 (2007), os comprimentos de onda de ( $380 \leq \lambda < 760$ ) nm. O espectro de absorção da lâmpada de luz visível não foi fornecido pelo fabricante, porém considerando que a lâmpada utilizada envolva toda essa faixa, pode-se atribuir a toxicidade do dióxido de titânio ao fato dele absorver em todo o espectro testado, mas de forma mais intensa abaixo de 400 nm, aproximadamente. Assim, mesmo sendo baixa a absorção na região do visível, esta foi suficiente para promover a fotoativação e, conseqüentemente, a liberação de radicais hidroxilas ao meio, os quais foram gerados em uma quantidade suficiente para expressar efeito tóxico para os organismos utilizados no teste.

Durante os experimentos foi observado que as soluções dos fotocatalisadores de nióbio necessitavam de um tempo maior para homogeneização no ultrassom, do que as soluções de  $TiO_2$ , e que a decantação das partículas também acontecia mais rapidamente. Isso permitiu que o  $TiO_2$  ficasse exposto por um tempo maior a uma maior intensidade de radiação do que as partículas dos fotocatalisadores de nióbio.

Estudos anteriores, como o de Sousa *et al.* (2013), que relatam uma maior eficiência de degradação de efluentes pelo  $TiO_2$  sob radiação solar, ou seja, a formação de radicais oxidantes no meio é mais intensa. Com isso, pode-se dizer que a liberação de fotocatalisadores no meio ambiente apresenta um alto risco para os organismos ali presentes, pois estas substâncias na presença da radiação solar podem maximizar também sua toxicidade.

## 6 CONCLUSÕES

Nenhuma das substâncias testadas apresentou toxicidade aguda aos microcrustáceos na ausência de radiação, porém, quando submetidas à radiação, apenas o dióxido de titânio expressou sua fototoxicidade, apresentando uma  $CE_{50} < 50 \text{ mg.L}^{-1}$  para ambos os organismos sob radiação UVA e, sob radiação visível, uma  $CE_{50} = 590,47 \text{ mg.L}^{-1}$  para *Daphnia magna* e  $CE_{50} = 636,19 \text{ mg.L}^{-1}$  para *Artemia salina*.

Com isso, é visto a importância de se avaliar a toxicidade dos diversos fotocatalisadores sob a influência de radiação, podendo-se dizer até que a utilização de radiação UV-Vis, em ensaios ecotoxicológicos com *Daphnia magna* e *Artemia salina*, seria um novo parâmetro para análise de semicondutores usados em fotocatalise.

Este é provavelmente o primeiro trabalho a avaliar a toxicidade e a fototoxicidade aguda de fotocatalisadores de nióbio e, para estudos futuros, propõem-se realizar testes utilizando lâmpadas com comprimento de onda menor, na região do UVB por exemplo, e/ou que imite o espectro solar, para verificar o comportamento dos fotocatalisadores de nióbio. Além disso, também realizar testes com outros organismos para verificar a interação das substâncias nos diferentes níveis tróficos.

Por fim, devida a elevada toxicidade do  $TiO_2$ , sugere-se que este não seja utilizado em suspensão na fotocatalise e sim na forma peletizada ou em suportes, para melhor ser retirado da solução.

## REFERÊNCIAS

- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 2009. 23 p.
- AMIANO, I; OLABARRIETA, J; VITORICA, J; ZORITA, S. Acute Toxicity of Nanosized TiO<sub>2</sub> to *Daphnia magna* Under UVA Irradiation. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 31, n. 11, p. 2564 – 2566, 2012.
- ARUOJA, V; DUBOURGUIER, H; KASEMETS, K; KAHRU, A. Toxicity of Nanoparticles of CuO, ZnO and TiO<sub>2</sub> to Microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*. **Science of the Total Environment**. v. 407, p. 1461 – 1468, 2009.
- ATES, M; DANIELS, J; ARSLAN, Z; FARAH, I. O. Effects of Aqueous Suspensions of Titanium Dioxide Nanoparticles on *Artemia salina*: assessment of nanoparticle aggregation, accumulation, end toxicity. **Environmental Monitoring and Assessment**. v. 185, p. 3339 – 3348, 2013.
- AZEVEDO, F. A; CHASIN, A. A. M. **As Bases Toxicológicas da Ecotoxicologia**. São Paulo: Editora Rima, 2004.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2 ed. Porto Alegre: Bookman, 622p., 2002.
- BENDASSOLLI, J. A.; MÁXIMO, E; TAVARES, G. A.; IGNOTO, R. F. Gerenciamento de Resíduos Químicos e Águas Servidas no Laboratório de Isótopos Estáveis do CENA/USP. **Química Nova**. v. 26, n. 4, p. 612 – 617, 2003.
- BROTA, G. A. **Ensaio Ecotoxicológico em Organismos-Teste *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri* na avaliação de efluentes sanitários aplicados na cultura de Eucalipto (*Eucalyptus urograndis*)**. 2012. 73 folhas. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.
- CBMM. Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração. Disponível em: <<http://www.cbmm.com.br/br/p/108/home.aspx>>. Acesso em: 03 fev. 2014.
- CERVANTES, T. N. M; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Estudo da Fotocatálise Heterogênea Sobre Ti/TiO<sub>2</sub> na Descoloração de Corantes Sintéticos. **Química Nova**. v. 32, n. 9, p. 2423 – 2428, 2009.

CIÊNCIA HOJE. *Daphnia magna*. Fotografia, colorida. Disponível em: <[http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1017/1/CT\\_COPAM\\_2012\\_2\\_06.pdf](http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1017/1/CT_COPAM_2012_2_06.pdf)>. Acesso em: 19 mai. 2014.

COSTA, C. R.; OLIVI, P. A Toxicidade em Ambientes Aquáticos: discussão e métodos avaliação. **Química Nova**. v. 31, n. 7, p. 1820 – 1830, 2008.

DABRUNZ, A; DUESTER, L; PRASSE, C; SEITZ, F; ROSENDEL, R; SCHILDE, C; SCHAUMANN, G. E.; SCHULZ, R. Biological Surface Coating and Molting Inhibition as Mechanisms of TiO<sub>2</sub> Nanoparticle Toxicity in *Daphnia magna*. **Plos One**. v. 6, n. 5, 2011.

DALAI, S; PAKRASHI, S; CHANDRASEKARAN, N; MUKHERJEE, A. Acute Toxicity of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles to *Ceriodaphnia dubia* under Visible Light and Dark Conditions in a Freshwater System. **Plos One**. v. 8, n. 4, p. 1 – 11, 2013.

DEZOTTI, M. **Processos e Técnicas para o Controle Ambiental de Efluentes Líquidos**. Rio de Janeiro: Editora e-papers, 2008.

FREAR, D. E. H.; BOYD, J. E. Use of *Daphnia* for the Microbioassay of Pesticides. I. Development of standardized techniques for rearing *Daphnia* and preparation of dosage mortality curves for pesticides. **Journal of Economic Entomology**. v.2, p.101 - 109, 1967.

HAMADA, N. **Ensaio de Toxicidade Empregados na Avaliação de Efeitos no Sistema de Tratamento de Esgotos e Efluentes, ETE Suzano, e seu Entorno, Utilizando Organismos Aquáticos**. 2008. 67 folhas. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

HEINLAAN, M; IVASK, A; BLINOVA, I; DUBOURGUIER, H; KAHRU, A. Toxicity of Nanosized and Bulk ZNO, CuO and TiO<sub>2</sub> to Bacteria *Vibrio fischeri* and Crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. **Chemosphere**. v. 71, p. 1308 – 1316, 2008.

ISO, International Organization for Standardization. **ISO: 6341** – Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) – Acute toxicity test. 1996.

\_\_\_\_\_. **ISO: 21348** – Space Environment (natural and artificial) — Process for determining solar irradiances. 2007.

JIANG, G.; SHEN, Z.; NIU, J.; BAO, Y.; CHEN, J.; HE, T. Toxicological Assessment of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles by Recombinant *Escherichia coli* Bacteria. **Journal of Environmental Monitoring**. v. 13, p. 42 – 48, 2011.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA, 288 p., 2004.

KOOL, P. L.; ORTIZ, M. D; GESTEL, C. A. M. Chronic Toxicity of ZnO Nanoparticles, Non-nano ZnO and ZnCl<sub>2</sub> to *Folsomia candida* (Collembola) in Relation to Bioavailability in Soil. **Environmental Pollution**. v. 159, n. 10, p. 2713 – 2719, 2011.

LAM, S; SIN, J; SATOCHI, I; ABDULAH, A. Z.; MOHAMED, A. R. Enhanced Sunlight Photocatalytic Performance over Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ZnO Nanorod Composites and the Mechanism Study. **Applied Catalysis A: General**. v. 471, p. 126 – 135, 2014.

LOPES, O. F.; PARIS, E. C.; RIBEIRO, C. Synthesis of Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Nanoparticles through the Oxidant Peroxide Method Applied to Organic Pollutant Photodegradation: a mechanistic study. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 144, p. 800 – 808, 2014.

LOVERN, S. B; KLAPER, R. *Daphnia magna* Mortality when Exposed to Titanium Dioxide and Fullerene (C<sub>60</sub>) Nanoparticles. **Environmental: Toxicology and Chemistry**. v. 25, n. 4, p. 1132 – 1137, 2006.

MA, H; BRENNAN, A; DIAMOND, S. A. Phototoxicity of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles Under Solar Radiation to Two Aquatic Species: *Daphnia magna* and *Japanese medaka*. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 31, n. 7, p. 1621 – 1629, 2012.

MACEDO, L. C.; PAULI, E. D.; MANECHINI, B. P.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Remediação de Águas Residuais por Fotocatálise Heterogênea: estudo dos parâmetros experimentais aplicados a fotocatalise eletroquímica. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**. v. 27, n. 1, p. 11 – 21, 2006.

MANAHAN, S. E. **Environmental Chemistry**. 9 ed. New York: CRC Press, 2010.

MARCONE, G. P. S. **Avaliação da Ecotoxicidade de Nanopartículas de Dióxido de Titânio e Prata**. 2011. 176 folhas. Dissertação de Doutorado – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MARCONE, G. P. S. OLIVEIRA, Á. C.; ALMEIDA, G; UMBUZEIRO, G. A.; JARDIM, W. F. Ecotoxicity of TiO<sub>2</sub> to *Daphnia similis* Under Irradiation. **Journal of Hazardous Materials**. v. 211 - 212, p. 436 – 442, 2012.

MARTÍNEZ, C.; CANLE L, M.; FERNÁNDEZ, M. I.; SANTABALLA, J. A.; FARIA, J. Aqueous Degradation of Diclofenac by Heterogeneous Photocatalysis Using Nanostructured Materials. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 107, p. 110 – 118, 2011.

MINETTO, D.; LIBRALATO, G.; GHIRARDINI, A. V. Ecotoxicity of Engineered TiO<sub>2</sub> Nanoparticles to Saltwater Organisms: an overview. **Environment International**. v. 66, p. 18 – 27, 2014.

NATIONS, S; WAGES, M; CAÑAS, J E.; MAUL, J; THEODORAKIS, C; COBB, G. P. Acute Effects of Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZnO and CuO Nanomaterial on *Xenopus laevis*. **Chemosphere**. v. 83, n. 8, p. 1053 – 1061, 2011.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A Fotocatálise Heterogênea e sua Aplicação Ambiental. **Química Nova**. v. 21, n. 1, p. 69 – 72, 1998.

NUNES, B. S.; CARVALHO, F. D.; GUILHERMINO, L. M.; VAN STAPPEN, G. Use of the Genus *Artemia* in Ecotoxicity Testing. **Environmental Pollution**. v. 144, p. 453 – 462, 2006.

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

PERSONNE, E., L, B., HERRMANN, B., MATTSON, M., SCHJOERRING, J.K., NEMITZ, E., SUTTON, M.A., C., P.: A model Combining the Surface Energy Balance and Bi-directional Exchanges of Ammonia Applied at the Field Scale, **Biogeosciences**, v.6, p.1371 - 1388, 2009.

PETROBRÁS. **N-2588**. Determinação da Toxicidade Aguda de Agentes Tóxicos em Relação à *Artemia* sp. 1996. 12 p. Disponível em: <<http://dc143.4shared.com/doc/ZYIzS9Mz/preview.html>>. Acesso em: 27 abr. 2014.

PIMENTEL, M. F.; SILVA JÚNIOR, F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O Uso de *Artemia* sp. como Organismo-Teste para Avaliação da Toxicidade das Águas Residuárias do Beneficiamento da Castanha de Caju Antes e Após Tratamento em Reator Biológico Experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**. v. 6, n. 1, p. 15 – 22, 2011.

PRADO, A. G. S.; BOLZON, Lucas B.; PEDROSO, Carolina P.; MOURA, Aline O.; COSTA, Leonardo L. Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> as Efficient and Recyclable Photocatalyst for Índigo Carmine Degradation. **Applied Catalysis B**, v. 82, n. 3 - 4, p. 219 - 224, 2008.

RADIX, P.; LÉONARD, M.; PAPANTONIOU, C.; ROMAN, G.; SAOUTER, E.; GALLOTTI-SCHMITT, S. THIÉBAUD, H. VASSEUR, P. Comparison of *Brachionus calyciflorus* 2-D and MICROTOX Chronic 22-h Tests with *Daphnia magna* 21-D Test for the Chronic Toxicity Assessment of Chemicals. **Environmental Toxicology Chemistry**, v.18, n. 10, p.2178 - 2185, 1999.

RATTE, H. T., HAMMERS M., WIRTZ C., CLEUVERS, R. Ecotoxicity Testing. Chapter 7. p.221 - 274. In B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister (eds.) **Bioindicators and biomonitors**, 9 ed. Elsevier Science. New York, 2003.

RAUF, M. A.; ASHRAF, S. S. Fundamental Principles and Application of Heterogeneous Photocatalytic Degradation of Dyes in Solution. **Chemical Engineering Journal**. v. 151, p. 10 - 18, 2009.

REEVES, J. F.; DAVIES, S. J.; DODD, N. J. F.; JHA, A. N. Hydroxyl Radicals (OH•) are Associated with Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>) Nanoparticle-induced Cytotoxicity and Oxidative DNA Damage in Fish Cells. **Mutation Research**. v. 640, p. 113 – 122, 2008.

RIZZO, L. Bioassays as a Tool for Evaluating Advanced Oxidation Processes in Water and Wastewater Treatment, **Water Research**, v. 45, n. 15, p. 4311 – 4340, 2011.

ROMANELLI, M. F. **Avaliação da Toxicidade Aguda e Crônica dos Surfactantes DSS e LAS Submetidos à Irradiação com Feixes de Elétrons**. 2004. 143 folhas. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SANTANA, V. S.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. Degradação Fotocatalítica de Efluentes de Indústrias Têxtil Empregando TiO<sub>2</sub> e Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, sob Irradiação Visível. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 24, n. 6, p. 1681 - 1686, 2002.

\_\_\_\_\_. Photocatalytic Degradation of the Vinsasse Under Solar Radiation. **Catalysis today**. Louisiana, v. 133 - 135, p. 606 - 610, 2008.

SANTANA, V. S.; MITUSHASI, E. O.; FERNANDES-MACHADO, N. R. C. Influence of Luminous Intensity on Textile Effluent Photodegradation. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 27, n. 1, p. 1 - 6, 2005.

\_\_\_\_\_. Avaliação da Atividade Fotocatalítica de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. **Acta Scientiarum. Technology**. Maringá, v. 32, n. 1, p. 55-61, 2010.

SANTO, N; FASCIO, U; TORRES, F; GUAZZONI, N; TREMOLADA, P; BETTINETTI, R; MANTECCA, P; BACCHETTA, R. Toxic Effects and Ultrastructural Damages to *Daphnia magna* of Two Differently Sized ZnO Nanoparticles: does size matter? **Water Research**. v. 53, p. 339 – 350, 2014.

SOUSA, M. A; GONÇALVES, C; PEREIRA, J. H. O. S; VILAR, V. J. P; BOAVENTURA, R. A. R; ALPENDURADA, M. F. Photolytic and TiO<sub>2</sub>-assisted Photocatalytic Oxidation of the Anxiolytic Drug Lorazepam (Lorenin Pills) Under Artificial UV Light and Natural Sunlight: a comparative and comprehensive study. **Solar Energy**. v. 87, p. 219 – 228, 2013.

STRIGUL, N; VACCARI, L; GALDUN, C; WAZNE, M; LIU, X; CHRISTODOULATOS, C; JASINKIEWICZ, K. Acute Toxicity of Boron, Titanium Dioxide, and Aluminum Nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. **Desalination**. v. 248, n. 1 – 3, p. 771 – 782, 2009.

USEPA. **Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms**. Fifth edition, 266 p, 2002.

VERSTEEG, D. J.; STALMANST, M.; DYER, S. D.; JANSSEN, C. *Ceriodaphnia* and *Daphnia*: a comparison of their sensitivity to xenobiotics and utility as a test species. **Chemosphere**, v.34, n. 4, p. 869 - 892, 1997.

WARHEIT, D. B.; HOKE, R. A.; FINLAY, C; DONNER, E. M; REED, K. L.; SAYES, C. M. Development of a Base set of Toxicity Tests Using Ultrafine TiO<sub>2</sub> Particles as a Componente of Nanoparticles Risk Management. **Toxicology Letters**. v. 171, n. 3, p. 99 – 110, 2007.

WIENCH, K; WOHLLEBEN, W; HISGEN, V; RADKE, K; SALINAS, E; ZOK, S; LANDSIEDEL, R. Acute and Chronic Effects of Nano-and Non-nano-scale TiO<sub>2</sub> and ZnO Particles on Mobility and Reproduction of the Freshwater Invertebrate *Daphnia magna*. **Chemosphere**. v. 76, n. 10, p. 1356 – 1365, 2009.

WILD ABOUT UTAH. **Ciclo de vida da *Artemia salina***. Fotografia, colorida. Disponível em: <<http://wildaboututah.org/tag/brine-shrimp/>>. Acesso em: 09 set. 2014.

YAN, J; WU, G; GUAN, N; LI, L. Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/TiO<sub>2</sub> Heterojunctions: synthesis strategy and photocatalytic activity. **Applied Catalysis B: Environmental**. v. 152–153, p. 280 – 288, 2014.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: princípios e aplicações**. 2 ed. São Paulo: Editora Rima, 2008.

ZHAO, Y; ZHOU, X; YE, L; TSANG, S. C. E. Nanostructured Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> Catalysts. **Nano Reviews**. v. 3, 2012.

ZHU, X; CHANG, Y; CHEN, Y. Toxicity and Bioaccumulation of TiO<sub>2</sub> Nanoparticle Aggregates in *Daphnia magna*. **Chemosphere**. v. 78, p. 209 – 215, 2010.

ZOONAR. **Artemia salina**. Fotografia, colorida. Disponível em: <[http://www.zoonar.de/photo/salzkrebs-artermia-salina\\_2483057.html](http://www.zoonar.de/photo/salzkrebs-artermia-salina_2483057.html)>. Acesso em: 19 mai. 2014.

**ANEXO A**

Carta controle para *Daphnia magna* empregando dicromato de potássio para os testes de sensibilidade.

