

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CAMPUS ARARANGUÁ

TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE ENGENHARIA DE ENERGIA

BÁRBARA QUEIROZ SOARES

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE CINZAS DE FUNDO DE
MADEIRA TRATADA E NÃO TRATADA. ANÁLISE DE TOXICIDADE NO SOLO.**

ARARANGUÁ

2022

BÁRBARA QUEIROZ SOARES

**ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE CINZAS DE FUNDO DE
MADEIRA TRATADA E NÃO TRATADA. ANÁLISE DE TOXICIDADE NO SOLO.**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Energia do Centro de Ciências, Tecnologias e Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina para como requisito para obtenção do título de Engenheira de Energia.

Orientador: Professor Dr. Claus Tröger Pich.

ARARANGUÁ

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Soares, Bárbara Queiroz
ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE CINZAS DE FUNDO
DE MADEIRA TRATADA E NÃO TRATADA. ANÁLISE DE TOXICIDADE NO
SOLO / Bárbara Queiroz Soares ; orientador, Claus Tröger
Pich, 2022.
45 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Araranguá,
Graduação em Engenharia de Energia, Araranguá, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia de Energia. 2. combustível. 3. geração de
energia. 4. madeira tratada. 5. arseniato de cobre
cromatado. I. Pich, Claus Tröger . II. Universidade Federal
de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Energia. III.
Título.

Bárbara Queiroz Soares

ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE CINZAS DE FUNDO DE MADEIRA TRATADA E NÃO TRATADA. ANÁLISE DE TOXICIDADE NO SOLO.

O presente Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso de Engenharia de Energia, foi avaliado e aprovado pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Claus Tröger Pich, Dr

Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Reginaldo Geremias, Dr

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Elídio Angioletto, Dr,

Universidade do Extremo Sul Catarinense

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de graduação em Energia de Energia

Prof. Luciano Lopes Pfitscher, Dr

Coordenador do Curso

Prof. Claus Tröger Pich, Dr.

Orientador

Bárbara Queiroz Soares

Araranguá, 13 de julho de 2022.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais e ao meu irmão por todo o apoio concedido não somente financeiro, mas também emocional para superar tantas dificuldades que aparecem do decorrer da graduação. Agradeço ao Professor Claus, meu orientador, por todos os anos de pesquisa juntos, por todo conhecimento e técnicas aprendidas. Por todas as conversas de apoio, por ter sido um grande conselheiro, amigo e por ter me despertado o interesse pela pesquisa e pela área biológica. Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por ter proporcionado a bolsa para realização desse trabalho e de todos os projetos de pesquisa que participei durante a graduação. Ao Professor Elídio que cedeu seu laboratório para a realização de alguns testes, e por todo aprendizado que obtive no decorrer da minha iniciação científica no seu laboratório junto ao Prof. Claus. Agradeço a todos que de alguma forma foram essenciais para eu ter conseguido chegar até aqui. Também agradeço a mim por não ter desistido todas as vezes que passou pela minha cabeça desistir.

RESUMO

A madeira é um insumo largamente utilizado, tanto para construção civil, quanto para fabricação de móveis, indústria naval, e até como recurso energético. A aplicação para alguns dos fins já citados necessita de tratamento, para que a madeira possua características de elevada durabilidade e resistência. Um tradicional tratamento preservativo de madeira é a formulação Arseniato de Cobre Cromatado (CCA) a qual foi popularizada a partir da década de 1970. Sua composição inclui cobre (CuO), cromo (CrO₅), e arsênio (As₂O₅), revelando elevado potencial tóxico. Quando a madeira com conservantes é utilizada como combustível, tanto na forma de lenha como na forma de carvão, bem como simplesmente eliminada por queima nos próprios canteiros de obras, quantidades significativas de arsênio, cromo e cobre, conhecidamente agentes tóxicos e carcinogênicos são acumulados nas cinzas e podem representar sérios problemas ecológicos. Este trabalho tem como objetivo determinar os efeitos tóxicos das cinzas de madeira tratada e sem tratamento com CCA in natura e de lixiviados utilizando-se de diversos bioindicadores. Desta maneira o objetivo deste trabalho é complementar a análise do efeito ecotóxico de cinzas de fundo provenientes da combustão de madeira tratada com arseniato de cobre cromatado do tipo C. As madeiras para produção de cinza foram adquiridas em madeireiras da região de Criciúma/Sc e produzidas por ensaio de queima. A análise físico-química mostrou altos teores de arsênio e cromo, 59,45 e 54,28 mg/L, respectivamente, no lixiviado de cinza de madeira tratada, e 0,70 mg/L, 0,30 mg/L foram encontrados no lixiviado de cinza de madeira não tratada, respectivamente. Nenhum teor significativo de cobre foi encontrado nos lixiviados, entretanto as cinzas brutas de madeira tratada com CCA possuem significado teor de cobre, o que sugere que a lixiviação desse composto não foi possível com água ultrapura. No teste de concentração inibitória mínima com *Staphylococcus aureus* efeitos significativos foram observados nas concentrações de 50 e 90 % para os lixiviados de cinza de madeira tratada e não tratada com CCA. Com *Escherichia coli* os efeitos significativos foram observados na concentração de 7,5 % para os lixiviados de cinza de madeira tratada com CCA, enquanto para os lixiviados de cinza de madeira não tratada esse efeito foi observado a partir da concentração de 50%. Foi utilizado o solo artificial tropical para os testes de germinação em *Lactuca sativa* e teste de fuga com *Eisenia fétida* e os resultados obtidos para esses foram a não germinação *L. sativa* no solo com

cinzas de madeira tratada com CCA e o evitamento dos organismos expostos ao mesmo, respectivamente. O teste de *Artemia sp*, apresentou letalidade para os organismos expostos a cinza de madeira tratada com CCA nas concentrações de 500 mg/Kg e 750 mg/kg, e para a cinza de madeira não tratada houve a sobrevivência dos organismos nas mesmas concentrações. No teste de fuga pode observar uma preferência pelo solo contendo as cinzas de madeira não tratada com CCA tanto na concentração de 750 mg/Kg como na de 1500 mg/Kg. Este resultado pode estar relacionado ao aumento de matéria orgânica provenientes das cinzas. Na concentração de 1500 mg/Kg também foi observada a tendência dos organismos evitarem o solo contendo cinza de madeira tratada com CCA. Ao fim de todos os resultados obtidos foi possível a confirmação do potencial tóxico das cinzas de madeira tratada com CCA.

Palavras-chave: CCA; combustível; geração de energia; madeira tratada; arseniato de cobre cromatado

ABSTRACT

Wood is a widely used input, both for civil construction and for the manufacture of furniture, the naval industry, and even as an energy resource. The application for some of the purposes already mentioned requires treatment, so that the wood has characteristics of high durability and resistance. A traditional wood preservative treatment is the Chromated Copper Arsenate (CCA) formulation, which was popularized in the 1970s. Its composition includes copper (CuO), chromium (CrO₅), and arsenic (As₂O₅), revealing a high toxic potential. . When wood with preservatives is used as fuel, both in the form of firewood and charcoal, as well as simply disposed of by burning at the construction sites themselves, significant amounts of arsenic, chromium and copper, known to be toxic and carcinogenic agents, accumulate in ash and can pose serious ecological problems. This work aims to determine the toxic effects of wood ash treated and untreated with CCA in natura and leachate using different bioindicators. In this way, the objective of this work is to complement the analysis of the ecotoxic effect of bottom ash from the combustion of wood treated with type C chromated copper arsenate. by burning test. The physical-chemical analysis showed high levels of arsenic and chromium, 59.45 and 54.28 mg/L, respectively, in the treated wood ash leachate, and 0.70 mg/L, 0.30 mg/L were found in the ash leachate from untreated wood, respectively. No significant copper content was found in the leachates, however the raw ash from wood treated with CCA has significant copper content, which suggests that the leaching of this compound was not possible with ultrapure water. In the minimum inhibitory concentration test with *Staphylococcus aureus*, significant effects were observed at concentrations of 50 and 90% for ash leachates from treated and untreated CCA wood. With *Escherichia coli*, significant effects were observed at a concentration of 7.5% for CCA-treated wood ash leachates, while for untreated wood ash leachates this effect was observed from a concentration of 50%. Tropical artificial soil was used for the germination tests in *Lactuca sativa* and the escape test with *Eisenia fetid* and the results obtained for these were the non-germination of *L. sativa* in the soil with ash from wood treated with CCA and the avoidance of organisms exposed to the same, respectively. The *Artemia* sp test showed lethality for organisms exposed to ash from wood treated with CCA at concentrations of 500 mg/kg and 750 mg/kg, and for ash from untreated wood there was survival of organisms at the same concentrations. of escape can observe a preference for the soil containing the ash of wood not treated with CCA in both the concentration of

750 mg/Kg and 1500 mg/Kg. This result may be related to the increase in organic matter from the ash. At the concentration of 1500 mg/Kg, the tendency of organisms to avoid soil containing wood ash treated with CCA was also observed. After all the results obtained, it was possible to confirm the toxic potential of ash from wood treated with CCA.

Keywords: CCA; fuel; power Generation; treated wood; chromated copper arsenate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cavaco produzido a partir de madeira não tratada

Figura 2 - Queima de madeira tratada disposta em suporte cerâmico

Figura 3 -. Montagem do teste de fuga com *Eisenia fetida*

Figura 4 - Gráfico do teste de concentração inibitória mínima utilizando a bactéria *Staphylococcus aureus*.

Figura 5 - Gráfico do teste de concentração inibitória mínima utilizando a bactéria *Escherichia coli*.

Figura 6 - Teste subagudo de germinação de sementes de *Lactuca sativa* utilizando CMT-CCA e CMNT com CCA “in natura” no solo.

Figura 7 – Teste artemia

Figura 8 - Teste de letalidade em *Eisenia fetida* utilizando lixiviados de madeira tratada e não trada com CCA

Figura 9 - Teste de fuga com *Eisenia fétida*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT: Associação Brasileira de normas técnicas

ABPM: Associação Brasileira dos Preservadores de Madeira

CCA: Arseniato de Cobre Cromatado

CMT-CCA: cinza de madeira tratada

CMNT: cinza de madeira não tratada

DNA: ácido desoxirribonucleico

EPA: United States Environmental Protection Agency

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IARC: Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer

LCPMT-CCA: lixiviado de cinzas pesadas de madeira tratada com CCA

LCPMNT: lixiviados de cinzas pesadas de madeira não tratada

MNT: madeira não tratada

MT: madeira tratada

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development

SAT: solo tropical artificial

SB: single strand DNA breaks

WTE: waste-to-energy – madeira para fins energéticos

SUMÁRIO

1	Introdução	14
1.1	A indústria da madeira	14
1.1.1	Madeira como material de construção e de fabricação de mobiliário.....	14
1.1.2	Madeira como recurso energético	15
1.1.3	Tratamento de Madeira com Arseniato de Cobre Cromatado	16
1.2	Toxicologia.....	17
1.2.1	Ecotoxicologia ou toxicologia ambiental.....	18
1.2.2	Genotoxicologia e mutagênese.....	19
1.3	Toxicologia da madeira tratada COM CCA.....	19
1.3.1	Cinzas oriundas de madeira tratada com CCA	20
1.3.2	Lixiviação	22
2	Objetivos	23
2.1	objetivo geral	23
2.2	objetivos específicos.....	23
3	Material e métodos	23
3.1	Obtenção das amostras.....	23
3.1.1	Obtenção das amostras de madeira tratada e não tratada e produção das cinzas. 24	
3.1.2	Produção do lixiviado de madeiras tratadas e não tratadas.....	25
3.1.3	Produção dos solos para análises toxicológicas.	26
3.2	Testes físico-Químicos para análises das cinzas	27
3.2.1	Análises de metais	27
3.2.1	Análise de fenóis	27
3.3	Testes toxicológicos.....	28
3.3.1	Testes com microrganismos	28
3.3.2	Testes com modelos vegetais.....	28
3.3.3	Testes com modelos animais.....	28

3.3.4	Testes de toxicidade com <i>Eisenia fetida</i> (minhocas).....	29
3.4	Análise estatística	31
4	Resultados e Discussão	31
4.1	TESTES FÍSICO-QUÍMICOS.....	31
4.2	TESTES TOXICOLÓGICOS	34
4.2.1	Método de micro diluição em caldo (concentração inibitória mínima)	34
4.3	Testes com modelos vegetais	36
4.3.1	Teste subagudo de germinação de sementes de <i>Lactuca sativa</i>	36
4.4	Testes com modelos Animais	36
4.4.1	Ensaio com <i>Artemia sp</i>	36
4.4.2	Teste de letalidade em <i>Eisenia fétida</i>	37
4.4.3	Teste de fuga ou teste de evitamento com <i>Eisenia fetida</i>	38
5	Conclusão	39
6	Referências	41

1 INTRODUÇÃO

1.1 A INDÚSTRIA DA MADEIRA

A indústria da madeira envolve a produção e colheita de árvores para diversos fins, como a construção civil, construção naval e fabricação de móveis. Esta indústria inclui processos de conversão da madeira em produtos de madeira serrada, em papel e celulose, produtos químicos, ou lenha, tendo o seu processo produtivo as etapas de extração, armazenamento, tratamento químico e destinação para uso (SINDIMADE, 2018).

A Pesquisa Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura traz os dados de produção de madeira no Brasil, no período de 2011 a 2016, dos quais a produção de lenha e madeira em toras reduziu nos últimos anos, de lenha 37.574.207 m³ e 14.116711 m³ de madeira em tora, produzidos em 2011, para 24.954.940 m³ e 11.450.693 m³, respectivamente, em 2016 (IBGE, 2016). Essa redução também foi constatada na Europa, e se atribuí a crise financeira que teve seu início em 2007 (HILDEBRANDT et al, 2017).

Apesar da redução na produção de madeira, o volume total produzido em 2016 no Brasil é ainda significativo, cerca de 36.405.633 m³ somando-se volume de madeira em toras e lenha (IBGE, 2016).

1.1.1 Madeira como material de construção e de fabricação de mobiliário.

Desde os primórdios da civilização a madeira já era utilizada como material de construção. Foram descobertos, na pré-história, em várias civilizações, vigas e pilares que nos remetem a épocas anteriores à descoberta do fogo (Somensi, Estela Cristina, 2004).

A madeira é um insumo da construção civil de longa data. A madeira de eucalipto, como exemplo, foi muito utilizada em construções de edificações no século 19, tornando-se representante da construção deste século. Isso se deve às características mecânicas desta madeira, na qual a madeira de eucalipto tem um comportamento praticamente linear entre 0,4 MPa e 30 MPa, em teste de resistência a tração, e para resistência à ruptura, esta madeira possui valor médio de 65,5 MPa. Já em teste de resistência à

compressão possui um valor médio de força de compressão paralela às fibras de 59,1 MPa (RAPOSO et al., 2017).

A construção avaliada por Raposo et al. (2017) datada do século 19, localizada em Felgueiras, Portugal, é um edifício composto por dois pisos e o telhado, e possui paredes em alvenaria, mas grande parte de sua estrutura se aplica a madeira de eucalipto.

O setor de construção europeu possui significativa utilização de materiais de construção à base de madeira. Entre 1950 e 1960 foram consumidas em torno de 5,2 toneladas de madeira para construção, e entre 1990 e 2010 este número foi de 6,4 milhões de toneladas, evidenciando significativo aumento do uso da madeira na construção. (HILDEBRANDT et al, 2017).

Assim como na Europa, no Brasil, o setor de construção utiliza a madeira em grande escala. Estes setores se destacam no cenário socioeconômico, com contribuições significativas ao PIB (CAPANEMA et al., 2013).

1.1.2 Madeira como recurso energético

Através da história a madeira sempre foi usada como fonte de combustível. No final da década de 60, cerca de 43% da madeira cortada era utilizada como combustível (CORDER, S.E., 19973. Wood and Bark as Fuel. Research Bulletin 14. Forest Research Laboratory. Oregon State University, p.27).

A intensificação das atividades antrópicas, acompanhada do crescimento populacional exponencial e ao grande aumento no consumo pessoal gerou aumento significativo na demanda global por energia, que triplicou nos últimos 50 anos, e pode triplicar nos próximos 30 anos (GOLDEMBERG, 2001).

Esta grande demanda é proveniente dos mercados de energia insensíveis às dimensões socioambientais. Este posicionamento do mercado culminou nas atuais mudanças climáticas que desencadearam uma crise, na qual as questões inerentes ao ecológico irão atuar com uma força cada vez maior. Neste sentido a utilização de fontes renováveis e mais limpas para produção de energia tem sido alternativa mais investida (SACHS, 2007).

Neste contexto, de acordo com Brito (2007), a utilização da madeira como recurso energético reduz a dependência energética do mercado externo além de oferecer

garantia quanto ao suprimento da demanda, por ser considerada recurso energético renovável. A madeira utilizada como recurso energético, denominada como lenha, tem contribuição histórica para o desenvolvimento da humanidade. Esta foi inicialmente empregada para aquecimento e cocção de alimentos, e atualmente é aproveitada como combustível em processos de geração de energia térmica, mecânica e elétrica. No Brasil, 69% da madeira utilizada é para fins energéticos: produção de carvão vegetal, consumos residenciais, industrial e agropecuário. (BRITO, 2007).

A lenha constitui uma fonte de energia provida pela natureza na sua forma direta, energia primária, esta é utilizada em algumas áreas, como para uso na cocção de alimentos, em indústrias químicas, alimentícias, têxtil, papel e celulose, cerâmica, cimento, e para o setor agropecuário, na secagem de grãos e aquecimento de animais. Além disso, essa energia primária pode ser transformada em usinas termoelétricas (GOLDEMBERG, 2001).

A biomassa florestal representa, portanto, a terceira fonte de energia da matriz nacional. Ciente dos avanços tecnológicos conquistados na área da geração de eletricidade, a partir da biomassa, vislumbra-se um cenário favorável ao desenvolvimento de plantações energéticas como fonte de matéria-prima para geração elétrica (MULLER, 2005).

Apesar de a madeira ter característica de fonte energética renovável, sua utilização na forma de lenha, apresenta ônus ambientais e à saúde. Quando a madeira não é submetida à combustão completa, o que acontece no uso doméstico, principalmente em países em desenvolvimento, geram produtos de combustão incompleta - principalmente monóxido de carbono, mas também benzeno, butadieno, formaldeído, hidrocarbonetos poliaromáticos e muitos outros compostos que representam riscos para saúde e são poluentes atmosféricos (SMITH, 2006). O risco é maior quando madeira com tratamentos preservativos, como as tratadas com arseniato de cobre cromatado (CCA), são submetidas à combustão, porque há emissões atmosféricas de compostos tóxicos voláteis e cinzas (WASSON et al., 2005).

1.1.3 Tratamento de Madeira com Arseniato de Cobre Cromatado

A formulação Arseniato de Cobre Cromatado (CCA) é um tradicional tratamento preservativo de madeira, muito utilizado nos EUA, popularizado a partir da década de 1970. Sua composição inclui aproximadamente 20% de cobre (CuO), de 35 a 60% de

cromo na forma de peróxido de cromo (CrO_5), e 15 a 45% de arsênio (As_2O_5) (SHIAU et al, 2000).

De acordo com *Arch Wood Protection* (2004), o tratamento à base de CCA proporciona a madeira características de resistência contra a ação de micro-organismos, cupins e fungos, mantendo a madeira limpa, inodora, sem manchas e, conseqüentemente, essas características fornecem uma madeira de maior durabilidade. Entretanto essa formulação largamente utilizada nos EUA desde a década de 1940, e extremamente popularizada neste mesmo país, em 1970, (cerca de 140 milhões de metros cúbicos em uso no ano de 2000), revela um elevado potencial tóxico (SHIAU et al, 2000).

Na década de 1960 no Brasil, alinhada à tendência do mercado internacional, a produção de madeiras tratadas ganhou maior ênfase e, no final desta década, em 1969 foi criada a Associação Brasileira dos Preservadores de Madeira (ABPM) em São Paulo. Nas décadas seguintes o número de usinas de tratamento de madeira no Brasil teve crescimento significativo, em 1982 tinham 13 usinas, e entre 1995 e 1996 já tinham registradas 68 usinas com capacidade de produção anual estimada em 865mil m^3 de madeira tratada (VIDAL et al., 2015).

1.2 TOXICOLOGIA

A utilização de substâncias como drogas e fármacos perpassa ao longo da história da humanidade em função de seus efeitos, porém foi somente a partir do período pós-Segunda Guerra Mundial que os efeitos benéficos potenciais de fármacos foram melhor elucidados. Além disso, as possibilidades das suas reações adversas também começaram a ser descritas (PASSAGLI, 2013).

A toxicologia, de acordo com Oga e Zannini (2003) é a ciência que estuda os efeitos nocivos da interação de substâncias químicas com organismos biológicos. Para Gupta (2018) a toxicologia é a ciência dos venenos, ou seja, é o entendimento de como vários agentes causam prejuízos à saúde humana e a outros organismos. Passagli (2013) evidencia que a toxicologia se encarrega de elucidar os mecanismos das lesões tóxicas e promover a avaliação quantitativa de alterações fisiológicas produzidas a partir da exposição a substâncias químicas. Portanto, toxicologia é o estudo dos efeitos adversos de agentes físicos ou químicos sobre os organismos vivos (GUPTA, 2018).

A toxicologia é desenvolvida por pesquisadores com diferentes formações técnicas e profissionais permitindo o aperfeiçoamento dos conhecimentos a partir de contribuições específicas de cada área que se envolve com a toxicologia (GOES, 1998). Esta ciência inclui a avaliação dos efeitos pelos quais os toxicantes desenvolvem o potencial toxicológico. Esses efeitos podem se manifestar por meio de diferentes mecanismos, como teratogenicidade, carcinogênese, mutagênese, imunotoxicidade, neurotoxicidade, distúrbios endócrinos, entre outros, os quais podem levar a alterações sutis meses ou anos após à exposição ao agente tóxico ou até mesmo a morte imediata do organismo exposto (GUPTA, 2018).

Esta ciência é organizada em algumas áreas de atuação, conforme a natureza do agente tóxico ou de como este alcança o organismo. Dentre elas, pode-se citar a toxicologia ambiental, área que estuda as ações e os efeitos nocivos causados por contaminantes químicos resultantes da poluição do ambiente com os organismos humanos (OGA, ZANNINI, 2003).

Além disso, existe uma interface entre os estudos da toxicologia e da genética, que se aplica tanto à toxicologia clínica, quanto à toxicologia ambiental e à ecotoxicologia. Esta interface é conhecida por genotoxicidade, que estuda os processos que alteram o DNA, podendo ser alterações físico-químicas na sua estrutura, mutagênese, e alterações no determinismo genético ao nível celular ou orgânico, carcinogênese e teratogênese, respectivamente (OGA, ZANNINI, 2003).

1.2.1 Ecotoxicologia ou toxicologia ambiental

Admitindo-se que um dos objetivos da Toxicologia enquanto ciência é prevenir os riscos decorrentes do contato a diferentes agentes tóxicos, e a intoxicação consequente deste, a ecotoxicologia, neste sentido, tem por base a prevenção destes riscos decorrentes de contaminação ambiental por uma infinidade de substâncias químicas que estão sendo relacionadas à morbidade e mortalidade por doenças, como câncer (FERNICOLA et al, 2003).

Neste contexto, estudos com organismos sentinelas devem ser delineados na definição de um valor-limite para salvaguardar a saúde da população exposta, neste caso não somente populações humanas, mas todo sistema biológico e ecológico de um determinado ambiente (PEDROZO, 2003). Os organismos sentinelas são intensamente mais expostos e muitas vezes mais sensíveis do que os humanos. Desta forma, eles

podem ser úteis para explicar o modo de ação, ou seja, a toxicocinética e toxicodinâmica, de um determinado toxicante que não foi identificado em humanos (PEDROZO, 2003).

1.2.2 Genotoxicologia e mutagênese

A genotoxicidade trata do estudo da toxicologia sob o aspecto genético, evidenciando as perturbações da vida ou a indução à morte ao nível das células e do organismo. Sendo assim, trata dos processos que alteram a base genética da vida, o ácido desoxirribonucleico – DNA (FERNICOLA et al, 2003). Estas alterações quando ocorrem na estrutura físico-química desencadeiam os processos de mutagênese. Já os processos de carcinogênese e teratogênese são alterações no determinismo genético ao nível celular ou orgânico, respectivamente (FERNICOLA et al, 2003).

Os processos de alterações do DNA, como a mutagênese, a carcinogênese e a teratogênese, são interações toxicodinâmicas especiais, uma vez que envolvem fatores de interações complexas, tanto exógenos quanto endógenos (PAOLIELLO; SILVA, 2003).

1.3 TOXICOLOGIA DA MADEIRA TRATADA COM CCA

O tratamento preservativo com CCA fornece altos níveis de concentração de arsênico e cromo na madeira tratada, e devido ao potencial contato humano em ambientes ocupacionais e à exposição ecológica, questões quanto aos efeitos nocivos à saúde pública começaram a ser levantadas. Devido aos possíveis efeitos nocivos da madeira tratada com CCA esta foi largamente retirada da maioria das aplicações residenciais, entretanto, pela sua durabilidade e resistência à lixiviação, a madeira tratada com CCA permanecerá em estruturas previamente construídas (MATOS et al., 2009).

Neste sentido, a *United States Environmental Protection Agency* (EPA) restringiu o uso de madeira tratada com CCA para usos residenciais em 2003 nos EUA como medida preventiva mediante a potencialidade de efeitos tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente (VIDAL et al., 2015).

Além disso, no Japão, de acordo com Ohgami et al. (2015), cessou-se a produção de madeira tratada com CCA nos últimos vinte anos, após a constatação deste mesmo potencial tóxico. Outros países como Suécia, Alemanha e Austrália também definiram restrições ao uso de CCA como método preservativo de madeira, principalmente pela

presença do arsênio, e do grau de lixiviação e descarte da madeira tratada (VIDAL et al., 2015).

De acordo com Matos et al. (2009), poucos estudos foram realizados acerca dos efeitos do tratamento CCA à saúde. Conforme os mesmos autores, não há estudos de toxicidade envolvendo a administração de CCA em modelos animais. Dos estudos realizados, sabe-se que CCA é corrosivo à pele, olhos e trato digestivo. Além disso, pessoas que foram expostas ao CCA líquido ou as cinzas contaminadas com altos níveis de cromo (IV), arsênico e cobre, desenvolveram graves efeitos à saúde caracterizados por hemorragias nasais e no sistema digestivo, urina escura, efeitos sobre o sistema nervoso, como formigamento e dormência nas mãos e pés, confusão mental, além de erupções cutâneas e descamação da pele. Para esclarecer o risco potencial de madeira tratada com CCA como produto de construção, os autores avaliaram a nefrotoxicidade do CCA e seus constituintes utilizando modelo animal de camundongos (MATOS et al., 2009).

Uma alternativa que também possibilita avaliar os potenciais efeitos toxicológicos do tratamento preservativo CCA são os testes *in vitro*. Ohgami et al (2015) avaliou detritos de madeira coletados após o Tsunami em 2011 no Japão verificando os efeitos da co-exposição a Cr, Cu e As em atividades celulares, nas linhagens BEAS-2B e A549. Esta pesquisa demonstrou o risco para a saúde da co-exposição aos elementos Cr, Cu e As, embora as concentrações utilizadas *in vitro* não fossem baseadas nas concentrações reais no ar através da incineração de detritos na área de estudo. Além disso, os resultados obtidos neste estudo indicam que apenas 2,1% dos detritos eram oriundos de madeiras tratadas com CCA e, no entanto, estas contribuíram para o aumento das concentrações de Cr, Cu e As em 110 vezes, 35 vezes e 300 vezes, respectivamente, em madeiras não tratadas, que representavam 95,3% do total de detrito avaliado (OHGAMI et al., 2015).

1.3.1 Cinzas oriundas de madeira tratada com CCA

A utilização de madeira como combustível é uma prática comum, que apresenta entre outras vantagens, a produção de cinzas com propriedades interessantes para aplicação na agricultura (Solo-Gabriele et al, 2002). Porém, apesar da madeira tratada ter uso proibido como lenha, esta acaba sendo utilizada para tal finalidade. Desta forma, a qualidade das cinzas produzidas a partir de misturas de madeiras tratadas e não

tratadas é comprometida pela presença de concentrações de cromo, cobre e arsênio, provenientes da formulação do tratamento da madeira (SOLO-GABRIELE et al, 2002).

A combustão como destinação final de resíduos sólidos, que contém madeira tratada com CCA, para fins de produção de energia (WTE do inglês *waste-to-energy*) possuem algumas vantagens que são ressaltadas por Jambeck et al (2007). As vantagens atribuem-se a diminuição de área do aterro e consequente produção de energia. Porém, a concentração de arsênio e cromo no lixiviado das cinzas é maior quando comparado ao lixiviado proveniente de resíduos sólidos urbanos que contém madeira tratada com CCA, o que pode aumentar os custos de gerenciamento para a destinação final de madeira WTE, necessitando avaliar em longo prazo os níveis de poluição atmosférica e da lixiviação proveniente da cinza disposta (JAMBECK et al, 2007).

Quando a madeira tratada com CCA é submetida à combustão há liberação de químicos tóxicos por meio de emissões atmosféricas e cinzas (Wasson et al, 2005). Tanto as cinzas volantes como as cinzas residuais, aquelas que precipitam nos fundos dos fornos, geradas durante a combustão de madeiras tratadas com CCA, podem conter quantidades significantes de arsênio. A exposição a níveis agudos a este metal pode levar a morte, assim como a exposição crônica ao câncer (Wasson et al, 2005). Além disso, as cinzas resultantes da combustão de madeira tratadas com CCA concentram muito o cromo, o qual muitas vezes é oxidado para Cr (VI), tornando-o mais tóxico e com maior mobilidade (JAMBECK et al, 2007).

Em um estudo realizado por Lucchini et al (2013) foi detectada uma redução drástica de crescimento de mudas de girassol associado a um aumento elevado de na concentração de metais nos tecidos vegetais quando solos contendo carvão vegetal ou cinzas podendo levar a contaminação a cadeia alimentar. Em outro trabalho Jones e Quillian (2014). Detectaram efeitos negativos no crescimento de plantas cultivadas em solos contendo concentrações de cavão vegetal acima de 50% e cinzas acima de 10% quando estas eram provenientes de madeiras tratadas a partir de conservantes de cobre entre eles o CCA.

Na avaliação geral de seus resultados, Ohgami et al. (2015) sugerem que se deve evitar a emissão para atmosfera, principalmente de Cr e As, por meio da incineração de restos de madeira, incluindo madeira tratada com CCA provenientes do Tsunami de 2011. Uma vez que os resultados deste estudo evidenciam aumento do risco

carcinogênico pela co-exposição ao Cr e As ao processo de incineração de detritos, incluindo madeira tratada com CCA após o desastre (OHGAMI et al., 2015).

Neste contexto, Danielsen et al. (2009), concluíram em seu estudo que o material particulado da queima da madeira, neste caso sem tratamento preservativo, gera danos ao DNA tanto em termos de danos SB (fragmentação das fitas da molécula de DNA) e quanto em danos oxidativos avaliados por FPG em linhagens células pulmonares humanas, A549. Embora seja necessário mais estudo para extrapolação em humanos, estes resultados indicam que os materiais particulados podem induzir efeitos adversos à saúde.

Para a mesma linhagem celular, A549, os ensaios realizados pelos autores supracitados mostraram que tanto cinzas de madeira sem tratamento preservativo quanto cinzas de madeira tratada com CCA apresentaram risco carcinogênico (DANIELSEN et al., 2009; OHGAMI et al., 2015). Desta forma o risco de cinzas provenientes de madeira tratadas com CCA é potencializado pela presença dos componentes tóxicos, cromo (IV), arsênico e cobre, associado ao risco inerente a própria cinza de madeira (WASSON et al., 2005).

A avaliação dos efeitos ecotoxicológicos envolvem uma crescente preocupação em relação ao destino final das cinzas e os ricos ambientais inerentes a estas. As cinzas com potencial efeito ecotoxicológico são classificadas pela União Europeia, com base em seus riscos imediatos ou retardados ao ambiente, porém, não existem critérios quantitativos padronizados para este fim, mas sim um consenso a respeito da caracterização ecotoxicológica por meio de testes com sistemas biológicos (STIERNSTRÖM et al., 2011).

1.3.2 Lixiviação

A lixiviação pode ocorrer a partir da madeira e dos resíduos da incineração. O lixiviado formado a partir das cinzas de madeira tratada com CCA, pode ser classificado como um tóxico poluente, uma vez que este é resultado da geração de efluentes de processos antrópicos (JAMBECK et al., 2007; GUPTA, 2018).

Para avaliar os efeitos toxicológicos de lixiviados de cinzas energéticas, Stiernström et al. (2011) propõem a utilização de uma bateria de testes ecotoxicológicos,

que mimetizam uma cadeia alimentar, por meio da aplicação de diferentes organismos biológicos como bioindicadores.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizando-se de bioindicadores, complementar a avaliação do efeito tóxico de cinzas de fundo provenientes da combustão de madeira não tratada e tratada com (CCA) em diferentes proporções de mistura em solos e lixiviados obtidos a partir destas cinzas.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Produzir através de queima controlada cinzas de madeira tratada e não tratada e caracterizá-las físico-quimicamente.
- Produzir lixiviado destas cinzas provenientes da combustão de madeira tratada e não tratada.
- Avaliar a qualidade do solo após a inserção das cinzas no mesmo
- Avaliar fitotoxicidade em espécimes de *Lactuca sativa* a partir de ensaios de exposição ao solo contendo diferentes proporções de cinzas.
- Avaliar a toxicidade do solo contendo diferentes proporções de cinzas obtidas a partir da queima de madeira tratada e não tratada utilizando o modelo *Eisenia fetida* (minhocas) em experimentos de toxicidade e fuga.
- Avaliar os efeitos genotóxicos e mutagênicos do lixiviado em células de hemolinfa de *Eisenia fétida*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de madeira tratadas com CCA do tipo C e de madeiras não tratadas, foram obtidas comercialmente, em usina de tratamento localizada no Estado de Santa Catarina, município de Criciúma - SC.

3.1.1 Obtenção das amostras de madeira tratada e não tratada e produção das cinzas.

As amostras de madeira obtidas comercialmente foram identificadas em dois grupos, tratada (MT), e não trada (MNT). Após, foram submetidas ao processo de corte para produção de cavacos, como ilustra a Figura 1, a fim de obter-se a queima completa e mais eficiente da madeira (SOLO-GABRIELE et al., 2002).

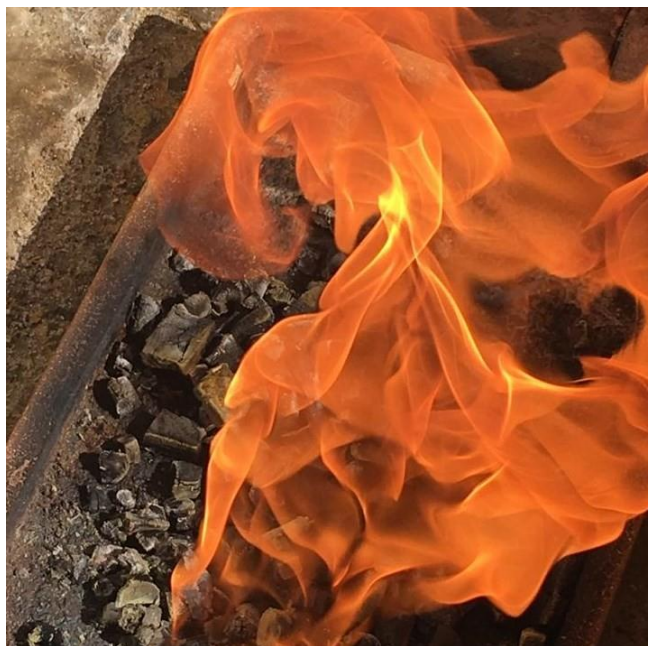
Figura 1 – Cavaco produzido a partir da madeira não tratada



Fonte: SCUSSEL et al. (2020)

O ensaio de queima foi realizado conforme Solo-Gabriele et al., (2002) com adaptações. A produção das cinzas foi realizada por queima, Figura 2, em lotes com massa (0,5 kg) de cavaco, dispostos em peça cerâmica com resistência a altas temperaturas. A incineração da madeira disposta no suporte cerâmico ocorreu em temperatura entre 560 a 660°C. A queima foi realizada de forma que as cinzas voláteis sejam liberadas e as cinzas de fundo resultantes serão por fim coletadas e mensurada a massa para posterior produção de lixiviado e solo.

Figura 2 - Queima de madeira tratada disposta em suporte cerâmico



Fonte: SCUSSEL et al. (2020)

3.1.2 Produção do lixiviado de madeiras tratadas e não tratadas

O extrato lixiviado foi obtido através do método preconizado pela ABNT NBR 10005:2004 “Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos”.

Os materiais e equipamentos que foram utilizados: agitador magnético, frascos de material inerte, pHmetro com eletrodo capaz de mensurar o pH em 0,01 unidades, balança analítica com resolução mínima de 0,01 g, peneira com abertura de 9,5 mm, balão volumétrico, béquer e vidro de relógio. Os reagentes foram água ultrapura obtida em sistema Direct-Q (MilliPore) isenta de interferentes analíticos, ácido clorídrico (HCl) p.a., 1,0 N, ácido nítrico (HNO₃) p.a., 1,0, hidróxido de sódio (NaOH) p.a., 1,0 N. e ácido acético glacial p.a. A partir destes reagentes foram preparadas as soluções extratoras, de pH $4,93 \pm 0,05$, e outra de pH $2,88 \pm 0,05$ (ABNT, 2004).

Foram realizadas determinações preliminares nas amostras de cinzas, para avaliar o tamanho de partícula, que serão consideradas 100% sólidas. A amostra foi passada em peneira de malha de 9,5 mm. Uma porção de 5,0 g foi transferida para um béquer, e foi adicionado 96,5 mL de água ultrapura, e seguiu para agitação magnética vigorosa por 5 min. Então foi mensurado o pH, deste resultado foi definida a solução extratora mais adequada: se o pH for $\leq 5,0$, foi utilizada a solução de extração nº 1; e se o pH for $> 5,0$ a solução de extração nº 2.

Para extração, utilizou proporção de (5:100, m/v) de sólido e solução extratora, conforme determinada anteriormente, transferiu para frasco de extração, vedou e manteve o frasco sob agitação durante (18 ± 2) h a temperatura de até 25°C com uma rotação de (30 ± 2) rpm no agitador rotatório. Após o período de extração, a amostra foi filtrada em membrana de filtração de 90 mm e assim foi obtido o extrato lixiviado (ABNT, 2004).

Este procedimento foi realizado separadamente para cada grupo, de madeira tratada e não tratada, as amostras foram armazenadas temporariamente sob refrigeração, 4°C, para posterior análises. Para os ensaios toxicológicos os lixiviados foram neutralizados, e foi utilizado como controle a solução extratora neutralizada e água mineral de fonte comercial.

3.1.3 Produção dos solos para análises toxicológicas.

Para o teste de toxicidade aguda com minhoca *Eisenia fetida*, foi utilizado solo tropical artificial (SAT), este foi realizado segundo o protocolo nº. 222 (2004), da OECD e a norma da ABNT NBR 15537:2014, o solo artificial deve ser constituído por 70% de areia industrial, 20% de argila branca e 10% de matéria orgânica, os quais devem ser totalmente misturados. A matéria orgânica recomendada pelas normas da OECD e da ISO, citadas anteriormente, é a turfa de esfagno, porém este material é difícil de ser obtido no Brasil, principalmente comercialmente. Assim, foi necessário utilizar outra fonte de matéria orgânica em substituição à turfa de esfagno. A substituição foi feita de acordo com o proposto por Garcia (2004), que em estudo sobre adaptação da metodologia de testes toxicológicos com minhocas em países tropicais, testou outros tipos de substrato e recomendou o uso do pó de fibra de côco ou do xaxim para a realização de tais testes. A norma da ABNT também recomenda o uso de esfagno moído seco, turfa ou pó de fibra de côco. Os materiais necessários para a realização do teste foram adquiridos na região. Foram feitas concentrações de 0% (solo controle), 2,5%, 5,0% e 10,0% de cinzas. O pH do solo, segundo as mesmas normas, foi ajustado para $6,0 \pm 0,5$, com a adição de CaCO_3 se necessário. Quanto à umidade, esta foi mantida entre 40% a 60% da capacidade de retenção do substrato de acordo com as normas citadas.

De acordo com (VM dos Santos, LC Maia), os indicadores da qualidade do solo devem ser identificados e analisados quanto à sensibilidade às mudanças e distúrbios ocorridos no ambiente. Esses podem ser físicos, químicos e biológico. Dentre eles são:

carbono da biomassa microbiana (CMB), respiração basal, quociente metabólico, quociente microbiano, enzimas do solo. Após a realização dos experimentos, esses indicadores foram analisados para avaliar a qualidade do solo.

3.2 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISES DAS CINZAS

3.2.1 Análises de metais

A análise dos metais e metaloide do tratamento preservativo CCA, cromo, cobre e arsênio, foi realizada conforme *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, método 3120 B – Análise de Metais por espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES). (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2012). O equipamento Agilent 720 ICP- OES (Santa Clara, CA USA) foi utilizado para as mensurações e as amostras foram preparadas por digestão com ácido nítrico. Esta análise foi realizada para ambos os lixiviados e cinzas brutas.

3.2.1 ANÁLISE DE FENÓIS

A quantificação de fenóis foi realizada conforme *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Método 5530 C – Método de extração com clorofórmio. Este é um método colorimétrico, no qual os extratos corantes da solução aquosa com clorofórmio foram coletados em cubetas limpas para medidas de absorvância a 460 nm, um espectrofotômetro DR 2800 (Hach, Loveland, CO, EUA). Amostras, soluções em branco e padrões foram preparadas da mesma maneira. A absorvância da amostra e dos padrões foi lida contra o branco a 460 nm. Uma curva de calibração foi construída plotando as leituras de absorvância contra a concentração de fenol em microgramas (determinada por soluções padrão). A curva de calibração foi verificada para garantir a reprodutibilidade ($r^2 \geq 0,9$) (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION; WATER ENVIRONMENT FEDERATION, 2012).

3.3 TESTES TOXICOLÓGICOS

3.3.1 Testes com microrganismos

3.3.1.1 Método de micro diluição em caldo (concentração inibitória mínima)

O método de micro diluição em caldo segue recomendações descritas por Bortolotto et al (2017) com adaptações. Os efluentes oriundos das cinzas volantes das madeiras tratadas e não tratadas com CCA foram adicionados aos tubos cônicos do tipo eppendorf a diferentes concentrações: 0%, 7,5%, 15%, 25%, 50% e 90%; sendo diluídos em água estéril quando necessário. O meio de cultura caldo BHI 10 vezes concentrado foi adicionado 100µL aos tubos. A suspensão bacteriana foi preparada na concentração de 10⁸ UFC/mL e diluída em (1:10, v/v) e em seguida, 50µL desta suspensão foi adicionada. O tempo de incubação dos tubos foi de 24 horas a uma temperatura de 37°C sem agitação. Após a incubação foi medida a densidade óptica em 664nm por espectrofotometria, com o objetivo de analisar o crescimento microbiano. As bactérias utilizadas no ensaio foram *Staphylococcus aureus* como Gram-positiva e *Escherichia coli* como Gram-negativa respectivamente.

3.3.2 Testes com modelos vegetais

*3.3.2.1 Teste subagudo de germinação de sementes de *Lactuca sativa**

A germinação de sementes de *L. sativa* foi realizada de acordo com Bortolotto et al. (2017) com modificações. As sementes (n =10) foram dispostas em placas de Petri contendo 10 gramas de solo artificial com diferentes concentrações de cinzas (0, 2,5 e 5,0 e 10%) a 22 °C no escuro. Foi realizada três repetições para cada concentração a fim de identificar as concentrações tóxicas e subtóxicas. O percentual de sementes germinadas e o crescimento das plântulas foi determinado 72 h após a exposição inicial. A germinação e crescimento em cada concentração foram comparados ao grupo controle (0%).

3.3.3 Testes com modelos animais

Foi utilizado o modelo de ensaios com *Artemia salina* foram utilizados para concentrações variadas de cinzas diretamente aplicadas no meio. Ensaios com *Eisenia fétida* foram utilizados para testar concentrações variadas de cinzas de madeira tratada e não tratada em solo tropical artificial.

3.3.3.1 *Ensaio com Artemia sp.*

A avaliação de toxicidade com *Artemia sp.* foi realizada de acordo com (NETTO et al., 2013). Como meio de incubação para os cistos de *Artemia sp.* foi utilizada uma solução de salina preparada com sal marinho sintético (30 g/L). Indivíduos jovens (n = 10) serão expostos a quantidades de cinzas em placas de múltiplos poços com 2 mL de cada concentração (500 e 750 mg/L e ácido bórico nas concentrações de 500 e 750 mg/L como controle positivo) e o meio controle (0 mg/L), em triplicatas. Após 24h de exposição, o número de organismos sobreviventes foi observado.

3.3.4 **Testes de toxicidade com *Eisenia fetida* (minhocas)**

3.3.4.1 *Teste de letalidade em Eisenia fetida*

Para o teste de toxicidade aguda com minhoca *Eisenia fetida* foram observados os protocolos nº. 222 (2004), da OECD e a norma da ABNT NBR 15537:2014.

Os recipientes utilizados nos testes foram de plástico, redondos com tampa perfurada para permitir a entrada de ar e ao mesmo tempo retardar o ressecamento. Em cada recipiente foram adicionados 10 organismos, todos adultos pesando entre 300 – 600mg. Serão feitas réplicas (n = 4) para cada concentração de solo testado. A mortalidade das minhocas foi avaliada após 7 e 14 dias, retirando-as do meio de teste e testando sua reação a estímulos mecânicos na parte frontal. Os ensaios foram realizados sob fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Como o tempo de duração do teste de toxicidade aguda é considerável (14 dias), optou-se por pesar os organismos sobreviventes ao fim de realização dos testes, pois, caso não fosse detectada toxicidade aguda, um parâmetro subletal poderia ser avaliado.

3.3.4.2 *Teste de fuga ou teste de evitamento com Eisenia fetida*

Os testes de evitamento (ou teste de fuga) foram realizados como descrito por Garcia (2004) e ISO 17512-1 (2008). O princípio do teste de evitamento é que os organismos apresentam capacidade para reconhecer o contaminante, evitando os locais contaminados. No caso das minhocas, acredita-se que por possuírem quimio-receptores na superfície do corpo, elas apresentam grande sensibilidade à presença de substâncias químicas do meio. Assim, a tendência é que elas evitem o substrato contaminado, se

deslocando para a metade do recipiente que contém o substrato puro. Neste teste os solos serão avaliados conforme o teste descrito acima com uma diferença, cada pote de plástico foi dividido ao meio por um divisor metálico, Figura 3. Em uma das metades foram colocadas 350g de solo tropical artificial (SAT) controle (sem cinzas) e na outra metade 350g de SAT contaminado com cinza de madeira tratada e não tratada (CMT-CCA e CMNT) com preservante em diferentes concentrações (uma só concentração por teste). Em seguida, retirou o divisor de plástico e 10 indivíduos, todos adultos e previamente aclimatadas em SAT 24h antes do teste, com clitelo e peso entre 300 – 600 mg, foram colocadas na linha divisória entre os dois substratos.

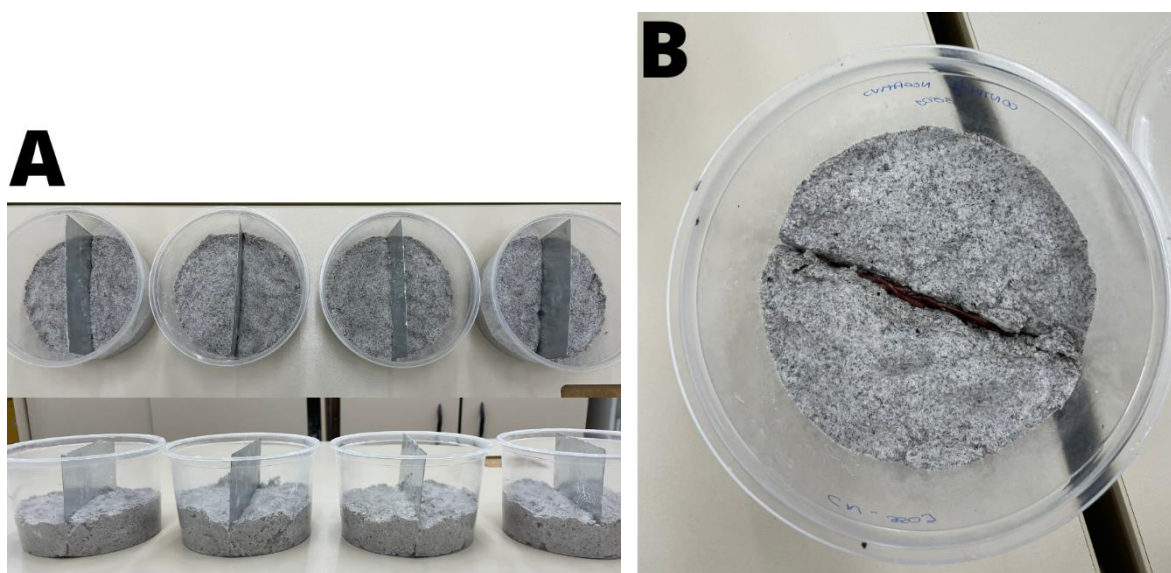


Figura 3 – Montagem do teste de fuga com *Eisenia fetida*. (A) Montagem do teste, solo controle separado por uma divisória do solo a ser testado. Essa divisória é retirada (B) e no vão é colocado o organismo. Em seguida o pote é tampado, incubado. Para a leitura é novamente colocada a divisória e são contados o número de organismo em cada lado.

Os recipientes foram fechados com tampas de plástico perfuradas, sendo distribuídos aleatoriamente pela bancada do laboratório e posicionados de modo que os lados dos recipientes que contém o solo contaminado ficassem sempre na mesma direção. Para a avaliação do teste, o divisor de plástico foi novamente introduzido nos potes, separando o solo contaminado do solo controle, fazendo-se então a contagem do número de indivíduos que se encontram em cada um dos lados, após 48 horas da montagem do experimento. O experimento foi realizado a temperatura de $20 \pm 2^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro e umidade aproximada de 50% da capacidade de retenção do solo. Foram feitas 4 repetições para cada solo testado e quatro repetições para cada controle, realizado com STA. A substância de referência

(controle positivo) para este teste foi o ácido bórico, sendo sua faixa de sensibilidade estabelecida entre 500 a 1500 mg/Kg. Para a realização dos testes de evitamento é necessário que se tenha o solo que se deseja avaliar quanto à toxicidade, e um solo que se considere não contaminado a ser considerado como o solo-controle do teste. O solo artificial talvez pudesse ser considerado como solo controle para esse teste. Rinke e Wiechering (2001) discutem a importância de se realizar o “dual control test”, que consiste em um teste de evitamento padrão em que não são aplicados contaminantes, utilizando-se apenas o solo controle nas duas metades do recipiente com o objetivo de se verificar a distribuição dos organismos nos potes. Os organismos devem estar, em média, igualmente distribuídos em ambos os lados do pote, apesar de ser comum ocorrerem exceções, com valores bem distantes dessa média. Este resultado é importante para garantir que a distribuição dos organismos nos potes não esteja sendo influenciada por outros fatores. A norma ISO 17512-1 (2007), define este parâmetro como um critério para validação do teste de evitamento, definindo que, em média, o número de minhocas deve estar na faixa de 40% a 60% para ambos os lados do recipiente, o que corresponde a uma porcentagem de evitamento aceitável de -20% ou 20% para os recipientes controles.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos ensaios toxicológicos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) não paramétrico, com exceção ao teste de fuga que foi utilizado o teste t, a cada experimento. Estas análises foram realizadas por meio do software GraphPad Prism 5.0, com significância de $p < 0,05$. Os resultados serão expressos em média \pm Desvio Padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 TESTES FÍSICO-QUÍMICOS

A quantidade total de metais, fenóis e medição de pH dos lixiviados é apresentada na Tabela 1 e na Tabela 2, respectivamente. As concentrações de arsênico e cromo foram de 59,45 e 54,28 mg/L no lixiviado de cinzas pesadas de madeira tratada com CCA (LCPMT-CCA) e 0,70 mg/L, 0,30 mg/L, foram encontradas em lixiviados de cinzas pesadas de madeira não tratada (LCPMNT), respectivamente. Os lixiviados não

apresentaram quantidade significativa de cobre. No entanto, nas amostras de cinzas de madeira tratadas com CCA, o teor de arsênio, cobre e cromo foi 4852,50, 3295,00 e 4882,50 mg/kg e 63,02, 71,47 e 73,70 mg/kg, respectivamente. A presença de cobre nas amostras de cinzas mostra que essas amostras são potencialmente mais tóxicas que as amostras de lixiviados.

Tabela 1 - Teor total de metais e fenóis nas amostras de lixiviados e teor total de metais nas amostras de cinzas pesadas.

Parâmetro	Amostras			
	LCPMT-CCA (mg/L)	LCPMN T (mg/L)	CPMT-CCA* (mg/kg)	CPMNT** (mg/kg)
Arsênio	59,45	0,70	4852,50	63,02
Cobre	< 0,01	< 0,01	3295,00	71,47
Cromo	54,28	0,30	4882,50	73,70
Fenóis	0,005	0,015	-	-

*Cinzas pesadas de madeira tratada com CCA; **Cinzas pesadas de madeira não tratada. Metais:

SMEWW - Method 3120 B (ICP - OES)

Fenóis: SMEWW - Method 5530 C / EPA 9065

O tratamento preservativo CCA utilizados nas amostras de madeira neste trabalho foi a base de óxidos de cobre (CuO), de cromo (CrO₅) e de arsênio (As₂O₅). Neste contexto, estudos com análise de microscopia eletrônica indicaram que os compostos metálicos e metaloides do tratamento de CCA a base de óxidos foram aglomerados com componentes minerais da madeira. Além disso, a abundância de Cr, Cu e As no produto de pirólise pode ser explicada pela alta concentração inicial impregnada na madeira desses metais e metaloides. Os óxidos de CCA, geralmente, contêm metais e metaloides na seguinte ordem decrescente de concentrações (% em massa): Cr>As>>Cu (HELSEN; HACALA, 2006). Esta proporção de concentração muito maior de cromo e arsênio em relação ao cobre é confirmada nos resultados das análises das cinzas, no qual a concentração de arsênio e cromo é respectivamente de 4852,50 e 4882,50 mg/kg, enquanto que de cobre é de 3295,00 mg/kg.

Na madeira tratada com CCA, o arsênio é principalmente ligado ao Cr como arsenato de Cr (CrAsO_4) e frequentemente associado ao Ca no resíduo de cinzas, e o As presente nesta forma é mais resistente à volatilização em comparação com muitos outros compostos as (PEDERSEN; OTTOSEN, 2006). Durante a pirólise da madeira tratada com CCA a 450°C , os compostos de CCA podem formar produtos de reação complexos como $\text{Cr}_2\text{As}_4\text{O}_{12}$ e As_2O_3 , que foram identificados por análises de TEM convencional por difração de elétrons de área selecionada por Hata et al. (2003). Além disso, também foi avaliada a volatilidade do arsênico sob temperaturas de até 500°C e, às vezes, por até por 1h, condições semelhantes às testadas neste trabalho. Os autores concluíram que mais de 20% do arsênico é perdido pela volatilização do composto de arsênio que não reagiu a 300°C , e provavelmente o arsênico é liberado como As_4O_6 , que é muito tóxico e difícil de capturar (HATA et al., 2003).

Além disso, o processo de lixiviação não foi capaz de extrair o teor de cobre identificado na amostra de cinzas, uma vez que há ausência de cobre na amostra de LCPMT-CCA (Tabela 1). Isso sucedeu provavelmente porque o óxido de cobre, CuO , é insolúvel em água, enquanto os óxidos de arsênio e cromo são solúveis ((HSDB), 2001; CHOU et al., 2007).

Tabela 2 – Quantificação de pH nas amostras de lixiviados

Parâmetro	Amostra (média \pm DP)		
	Água ultrapura	LCPMT-CCA	LCPMNT
pH	7.00 \pm 0.23	8.60 \pm 0.23	10.07 \pm 0.23

A água ultrapura foi utilizada como solução de extração, porque realizaram-se testes preliminares com soluções ácidas, relativamente mais eficientes na extração de óxido de cobre e cromo, porém os resultados mostraram que o pH da solução de extração gera efeitos toxicológicos nos modelos experimentais propostos neste trabalho. Além disso, Shiao, Smith e Avellar (2000) realizaram um estudo com três soluções diferentes de extração ácida e água destilada, especificamente para extração de CCA. Os autores descobriram que os níveis de pH tiveram pouco impacto na extração de metais Cr, Cu e As. Água com pH 7,0 mostrou-se tão eficaz na remoção de produtos químicos de CCA quanto os tratamentos ácidos, mas eles

apontaram que o processo de autoclavagem da madeira, por ser um ambiente ácido, pode facilitar a lixiviação de produtos químicos de CCA.

4.2 TESTES TOXICOLÓGICOS

Em razão dos testes físico-químicos revelarem a presença de contaminantes potencialmente tóxicos nos lixiviados das amostras, e para compor as relações concentração-resposta por esses dados químicos, foram realizados alguns bio-ensaios com diferentes modelos experimentais para determinar o potencial tóxico das amostras de lixiviados e solos.

4.2.1 Método de micro diluição em caldo (concentração inibitória mínima)

Na figuras 4 e 5 estão os resultados para o teste de microdiluição em caldo.

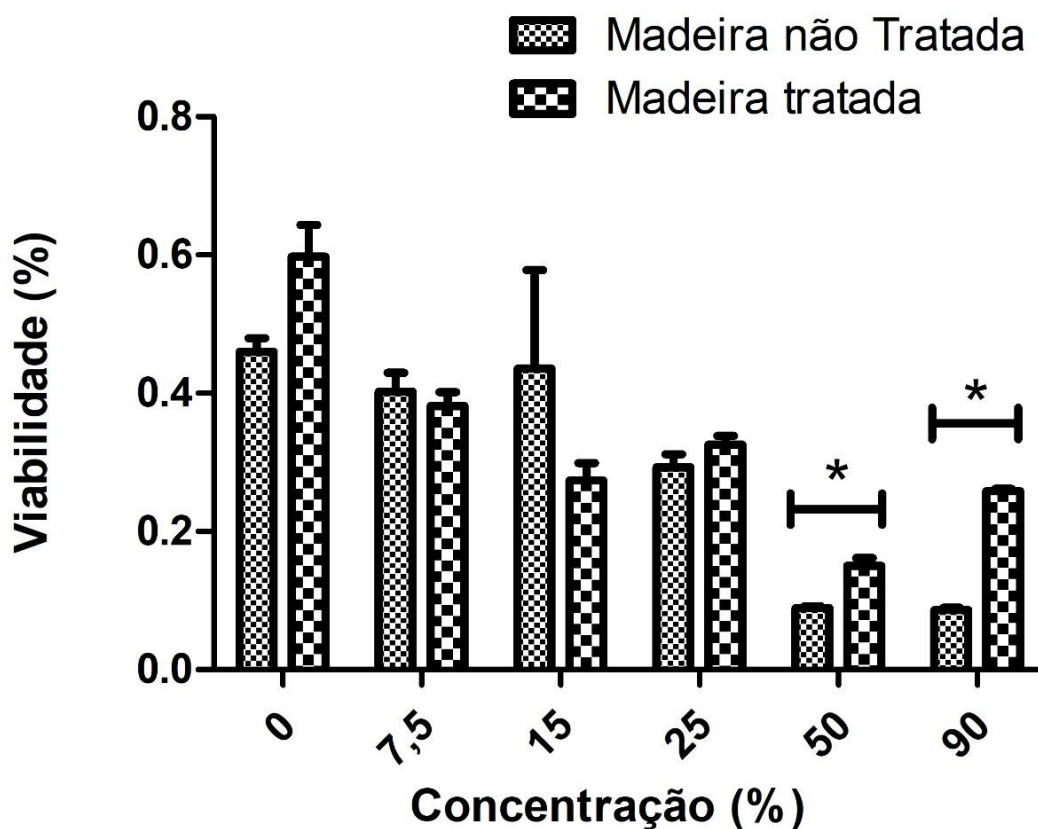


Figura 4. Gráfico do teste de concentração inibitória mínima utilizando a bactéria *Staphylococcus aureus*. Verifica-se que os resultados de toxicidade dos lixiviados de MT e MNT apresentam toxicidade semelhantes sendo significativas a partir da concentração de 50%

As amostras testadas em *Staphylococcus aureus* apresentaram resultados de toxicidade semelhante nos lixiviados de MT e MNT sendo significativas nas concentrações superiores testadas, 50 e 90%, (Figura 4). Nas amostras testadas com *Escherichia coli*, (Figura 5), verifica-se, que os resultados de toxicidade foram significativamente diferentes para a MT e MNT, nas concentrações, 7,5%, 15%. Desta maneira observa-se o efeito significativo de toxicidade nas amostras de madeira tratada a partir da concentração de 7,5%, enquanto para a madeira não tratada o efeito significativo é percebido a partir da concentração de 50%.

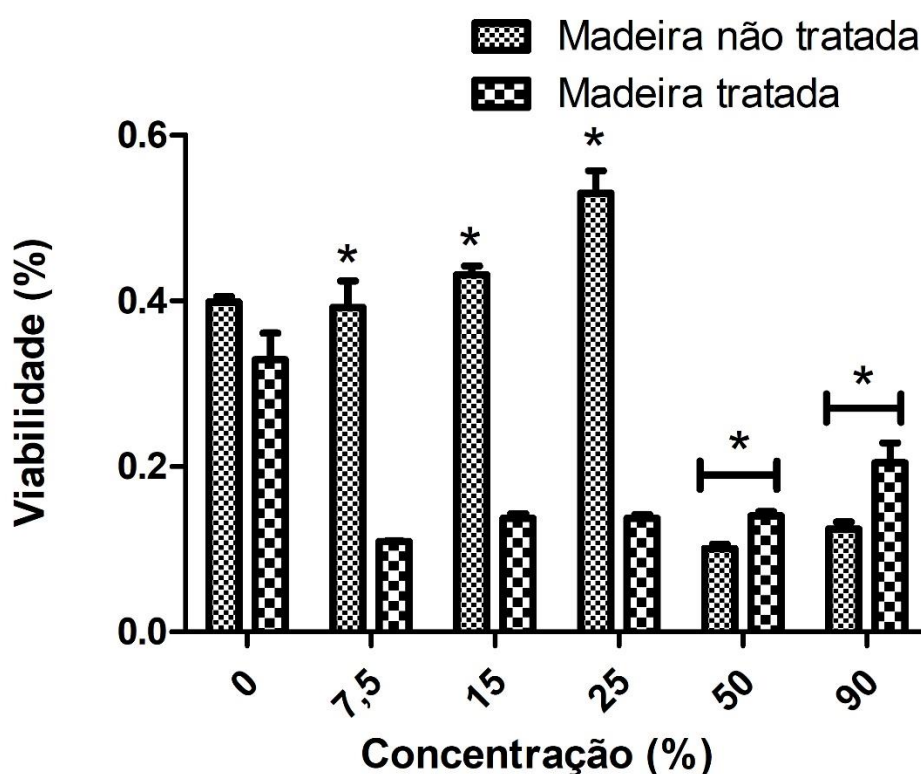


Figura 5. Gráfico do teste de concentração inibitória mínima utilizando a bactéria *Escherichia coli*. Verifica-se que os resultados de toxicidade dos lixiviados de MT e MNT apresentam toxicidade diferentes, sendo significativas para MT a partir da concentração de 7,5% e para MNT a partir de 50%. (* = $p < 0,05$ quando comparado ao controle negativo).

Cabe salientar que os resultados obtidos por SCUSSEL et al. (2020) foram diferentes dos encontrados no presente trabalho onde nenhuma das concentrações testadas apresentaram resultados significativos. Um dos motivos possíveis e o mais provável são a forma de queima da cinza e seu processamento posterior em mufla, pois estes não foram executados pela autora citada anteriormente.

4.3 TESTES COM MODELOS VEGETAIS

4.3.1 Teste subagudo de germinação de sementes de *Lactuca sativa*

O teste de germinação em *Lactuca sativa* demonstrou uma toxicidade em relação ao solo produzido com CMT-CCA, não houve germinação. Para o solo exposto com CMNT podemos observar a germinação, porém não obtivemos bons resultados ao aplicar o teste. c descreve que para amostras de lixiviado com CMT-CCA houve o estímulo de bloqueio do crescimento radicular e inibição ao aumento do peso. E esses foram significativos quando comparados com a CMNT.

Na metodologia original no teste com *Lactuca sativa* prevê-se a utilização de placas de petri e lixiviados. A adaptação para o teste realizado neste trabalho previu aplicar as cinzas “in natura” diretamente no solo obtendo os resultados apresentados na Figura 6, que demonstraram uma ausência de germinação no solo contendo CMT-CCA ao contrário da germinação e tamanhos de raiz e suas partes obtidas com CMNT e solo controle.

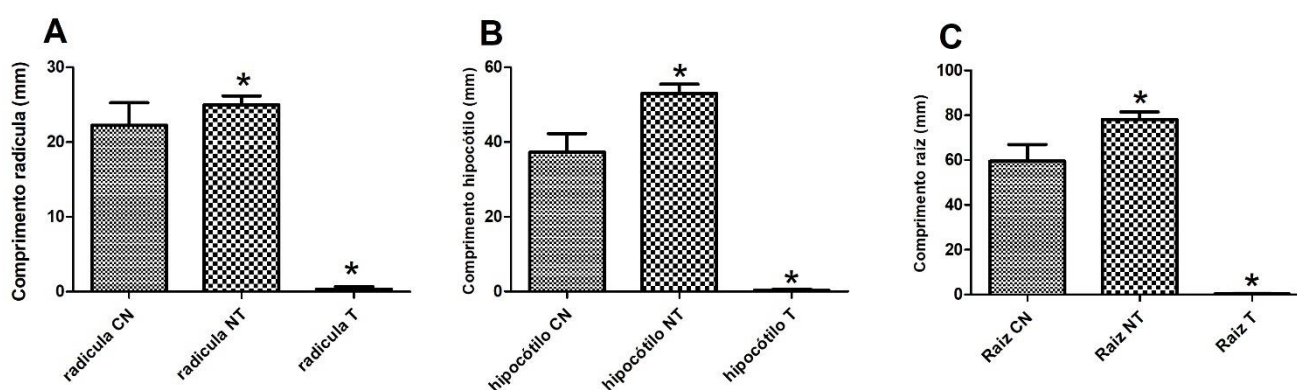


Figura 6: Teste subagudo de germinação de sementes de *Lactuca sativa* utilizando CMT-CCA e CMNT com CCA “in natura” no solo. A = comprimento de radícula, B = comprimento do hipocótilo e C = comprimento da raiz (radícula + hipocótilo). Observou-se que não houve germinação no solo acrescido de CMT-CCA com CCA enquanto que para o solo com CMNT não foi possível observar variações significativas no crescimento em relação ao solo controle.

4.4 TESTES COM MODELOS ANIMAIS

4.4.1 Ensaio com *Artemia sp*

Os resultados do ensaio de toxicidade com *Artemia sp* é mostrado na Figura 7. As cinzas de madeira não tratada com CCA, não demonstrou grau significativo de

letalidade para os organismos expostos nas concentrações testadas. Porém as cinzas de madeira tratada com CCA apresentou valores significativos de letalidade, nas concentrações de 500 mg/L e 750 mg/L.

Estes resultados corroboram com os encontrados por SCUSSEL et al. (2020) e reafirma a toxicidade da CMT-CCA.

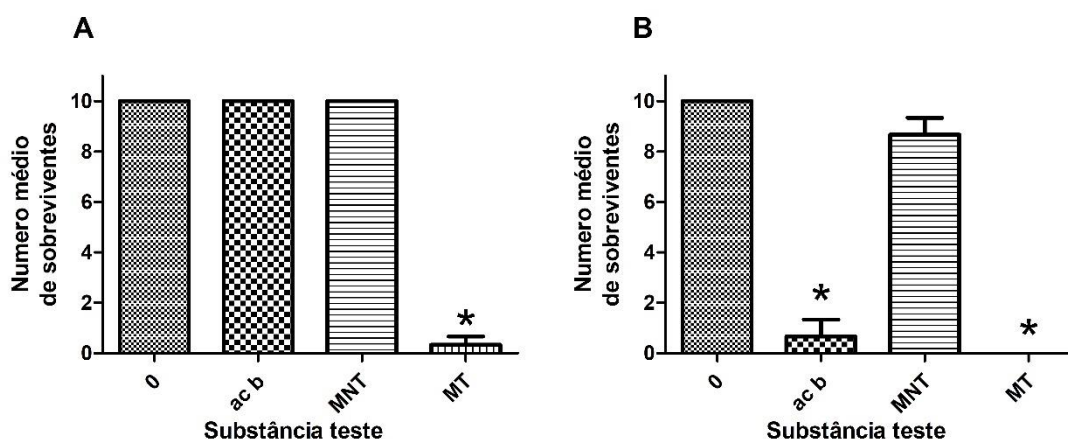


Figura 7. Teste de letalidade aguda utilizando o microrganismo *Artemia salina*. (A) Concentrações de 500 mg/L e (B) 750 mg/L. Resultados significativos pode ser observado para a CMT-CCA, enquanto que a CMNT não apresentou resultados significativos.

4.4.2 Teste de letalidade em *Eisenia fétida*

O teste de letalidade em *Eisenia fétida* (Figura 8) demonstrou que para indivíduos dispostos em lixiviado de cinza de MNT valores significativos puderam ser observados após a concentração de 25%, enquanto para o lixiviado de cinza de MT, os indivíduos apresentaram resultados significativos de letalidade desde a primeira concentração testada 7,5%.

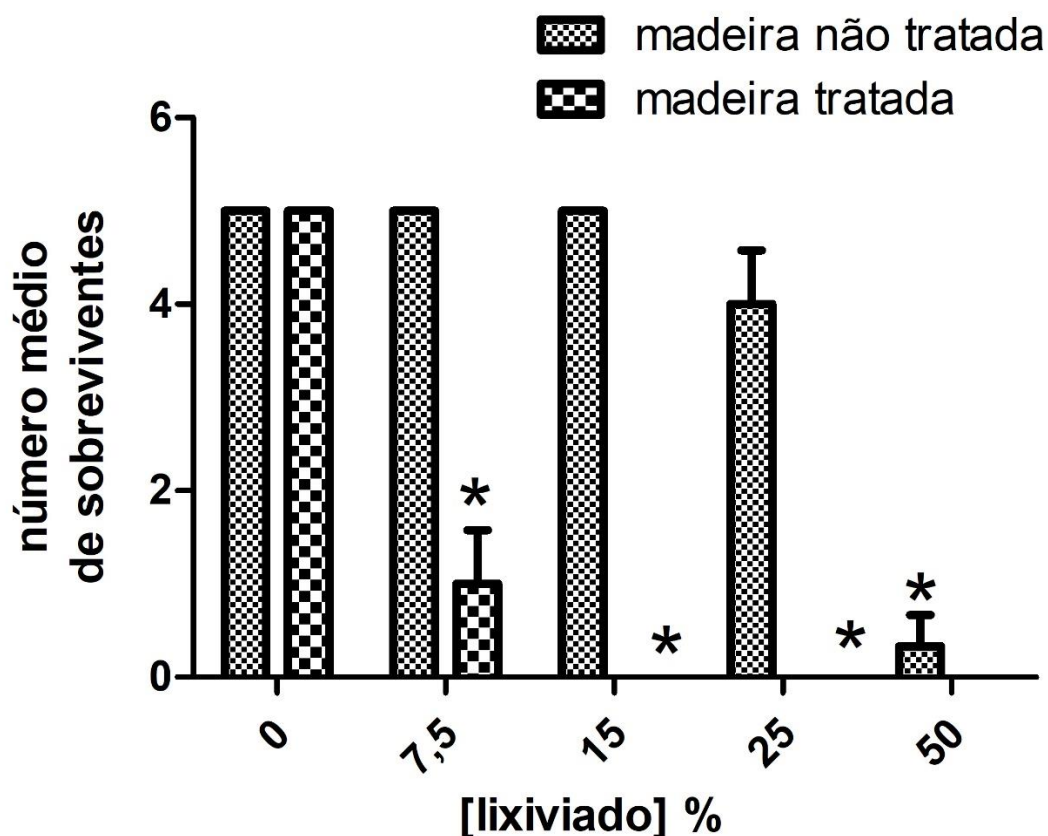


Figura 8. Teste de letalidade em *Eisenia fétida* utilizando lixiviados de madeira tratada e não tratada com CCA. Observa-se uma diferença significativa entre os lixiviados sendo que o de madeira tratada apresenta-se toxicidade a partir da concentração de 7,5% e o de madeira não tratada somente apresenta resultados significativos a partir de 25%. * $p=0,05$

4.4.3 Teste de fuga ou teste de evitamento com *Eisenia fetida*

Os resultados do teste de fuga ou evitamento estão demonstrados na figura 9. Neles pode-se observar que os solos acrescidos de CMNT foram significativamente preferidos em relação ao solo controle (CN) nas concentrações de 750 mg/kg e 1500 mg/kg, provavelmente por proporcionar matéria orgânica e uma possível mudança de pH o que favoreceu os organismos. Já para os solos acrescidos de CMT-CCA podemos observar que na concentração de 1500 mg/kg houve uma diminuição de organismos nessa sessão demonstrando sua preferência pelo compartimento que não continha CMT-CCA. Desta forma pode-se confirmar o efeito tóxico da CMT-CCA quando comparado com solo controle e com solo contendo CMNT.

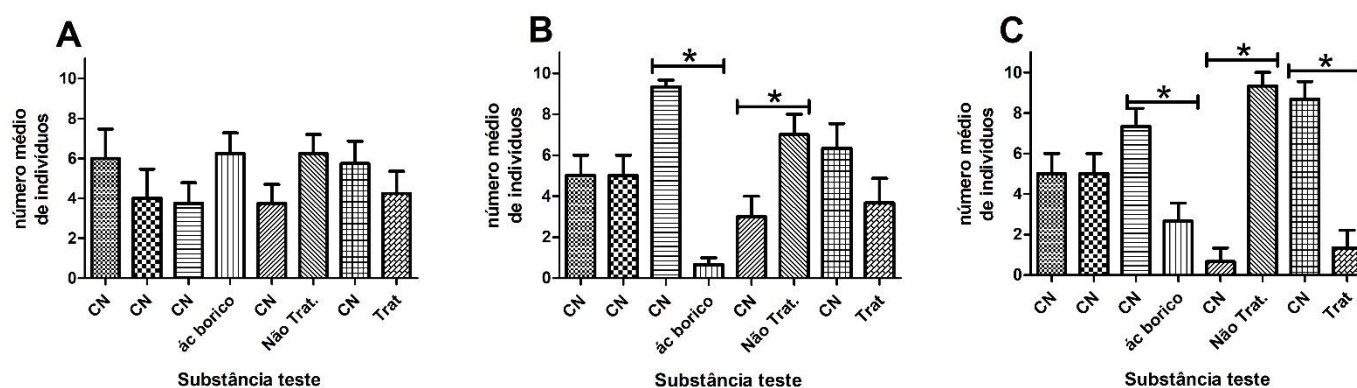


Figura 9: Teste de fuga com *Eisenia fetida*. (A) concentração testada de 500 mg/kg, (B) concentração testada de 750 mg/kg e (C) concentração testada de 1500 mg/kg. Observou-se na concentração de 500 mg/kg não houve resultados significativos, já na concentração de 750 mg/kg resultados significativos foram observados para CMNT que apresentou-se como atrativa para o organismo quando comparada ao controle. Na concentração de 1500 mg/kg repetiu-se o resultado anterior e foi observado para CMT-CCA uma toxicidade ou uma tendência do organismo evitar o solo contaminado com CMT-CCA significativa. * = $p < 0,05$. As observações foram feitas comparando-se o CN com sua substância teste

De acordo com McTavish et al. (2020) que testou o uso de cinzas de madeira como corretivo de solo, a longo prazo as cinzas podem aumentar a adequação do habitat dos solos por promover o aumento do pH, fornecer matéria orgânica necessárias ao solo e também pode favorecer a retenção da umidade. Porém quando falamos das cinzas em estudo, essas com o acúmulo ao passar do tempo pode acarretar sérios problemas tanto na biota quanto à saúde humana, pois essas são compostas por metais pesados de alto teor tóxico e carcinogênico.

Já os resultados obtidos com CMT-CAA não tem paralelo na literatura, sendo este trabalho, conforme a revisão bibliográfica realizada, o primeiro a utilizar este modelo para o estudo de cinzas de madeira tratada.

5 CONCLUSÃO

Por diversos testes e ensaios, foi realizada a avaliação do potencial tóxico das CMT-CCA e CMNT no solo confirmando que as cinzas de madeira tratada promovem toxicidade.

O teste de CIM com *Staphylococcus aureus* apresentou efeitos significativos e semelhantes de toxicidade para os LCPMT-CCA e LCPMNT nas concentrações superiores testadas, 50 e 90%. Utilizando *Escherichia coli* os resultados de toxicidade foram observados a partir de 7,5 %, para os LCPMT-CCA enquanto que o LCPMNT apresentou resultado significativo a partir da concentração de 50%.

O teste de toxicidade com *Artemia sp* demonstrou o efeito tóxico da CMT-CCA ao apresentar efeitos significativos nas concentrações de 500 mg/L e 750 mg/L a CMNT não houve efeitos significativos de toxicidade.

No teste de germinação em *Lactuca sativa* observou-se que no solo contendo CMT-CCA não houve germinação. No teste de letalidade com *Eisenia fetida*, também utilizando lixiviados foi observado o efeito tóxico do LCPMT-CCA na concentração de 7,5 % e LCPMNT apresentou resultado semelhante somente na concentração de 50 %. Quando foi utilizado solos contendo as CMT-CCA e CMNT no teste de fuga com *Eisenia fetida*, foi observado um efeito positivo da CMNT nas concentrações de 750 e 1500 mg/Kg, que pode estar relacionado a uma possível melhora nas condições do solo devido as cinzas conterem matéria orgânica. Porém, para a concentração mais alta testada, 1500 mg/kg, com CMT-CCA, demonstrou-se a tendência de evitar o solo com as cinzas de madeira tratada com CCA, portanto se liberada no solo, as cinzas podem desencadear um impacto deletério na biota. Este estudo, em conjunto com a literatura demonstra o potencial tóxico da CMT-CCA depositada no solo que pode ser lixiviada por água superficial e atingir mananciais hídricos.

Os resultados apresentados em conjunto as resoluções da literatura que pautam esse trabalho, trazem contribuições para que gestores públicos possam progredir quanto à restrição do uso de madeira tratada com CCA, tendo justificativa os efeitos tóxicos à saúde humana e ao meio ambiente. É necessária a regulamentação e normatização para uso energético da madeira tratada com CCA, em virtude dos possíveis impactos à saúde e ao meio ambiente.

6 REFERÊNCIAS

- ABNT. ABNT NBR 10005:2004 Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. p. 16, 2004.
- ABNT NBR 15537:2014. Ecotoxicologia terrestre - Toxicidade aguda - Método de ensaio com minhocas (Lumbricidae) (2014)
- APHA. SMEWW Method 3110 Acessado em 20/04/20. disponível em <https://www.standardmethods.org/doi/full/10.2105/SMWW.2882.039>.
- BORTOLOTTO, T. et al. Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 28, n. 2, p. 288–293, 2009.
- BORTOLOTTO, T. et al. Evaluation of toxic and genotoxic potential of a wet gas scrubber effluent obtained from wooden-based biomass furnaces: A case study in the red ceramic industry in southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 143, n. May, p. 259–265, 2017.
- BRITO, J. O. Uso Energético Da Madeira. *ESTUDOS AVANÇADOS*, v. 21, n. 59, p. 185–193, 2007.
- CAPANEMA, D. C. DE O. et al. Setor Madeireiro e as Consequências do Uso da Madeira na Construção Civil: Possíveis Soluções. p. 335–347, 2013.
- COLLINS, A. et al. Comet assay in human biomonitoring studies: Reliability, validation, and applications. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 30, n. 2, p. 139–146, 1997.
- CORDER, S.E., 19973. Wood and Bark as Fuel. *Research Bulletin 14*. Forest Research Laboratory. Oregon State University, p.27
- DANIELSEN, P. H. et al. Oxidative damage to DNA and repair induced by Norwegian wood smoke particles in human A549 and THP-1 cell lines. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 674, n. 1–2, p. 116–122, 2009.
- DOMINGOS, Débora de Medeiros. **Toxicidade das cinzas volantes geradas pela utilização de madeira tratada com Arseniato de Cobre Cromatado (CCA) como material combustível**. 2020. 69 p. Dissertação Mestrado (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, [S. l.], 2020.

FERNICOLA, N. A. G. G. DE; BOHRER-MOREL, M. B. C.; BAINY, A. C. D. Ecotoxicologia. In: As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: RiMa, 2003. p. 221–243.

GARCIA, M. Effects of pesticides on soil fauna: development of ecotoxicological test methods for tropical regions. 2004. 291 f. Tese (Doutorado) – Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät, Universidade de Bonn, 2004.

GOES, R. C. Toxicologia industrial: um guia prático para prevenção e primeiros socorros. [s.l.] Revinter, 1998.

GOLDEMBERG, J. Energia, Meio Ambiente & Desenvolvimento. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2001.

GUPTA, P. General toxicology. In: Illustrated Toxicology. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 1–65.

HILDEBRANDT, J.; HAGEMANN, N.; THRÄN, D. The contribution of wood-based construction materials for leveraging a low carbon building sector in europe. Sustainable Cities and Society, v. 34, n. July, p. 405–418, 2017.

HU, C. W.; Li, M.; Cui, Y. B.; Li, D.S.; Chen, J.; Yang, L.Y.. Toxicological effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles in soil on earthworm *Eisenia fetida*. Soil Biology & Biochemistry 42 (2010) 586 - 591

IBGE, 2016.
https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/pesquisas/anos_anteriores_2016.shtm
acessado em 12/03/2019

ISO. ISO 7346-1:1996 Water quality -- Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [Brachydanio rerio Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)] -- Part 1: Static method, 1996.

ISO 17512-1:2008 - Soil quality — Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour — Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*) (2008). Disponível em <https://www.iso.org/standard/38402.html> acessado em 20/04/2020.

LUCCHINI, P.; Quilliam, R.S.; DeLuca, T.H.; Vameralli, T. Jones, D.I.. Increased bioavailability of metals in two contrasting agricultural soils treated with waste wood-derived biochar and ash. Environ Sci Pollut Res (2014) 21:3230–3240.

JAMBECK, J. et al. CCA-Treated wood disposed in landfills and life-cycle trade-offs with waste-to-energy and MSW landfill disposal. *Waste Management*, v. 27, n. 8, p. 21–28, 2007.

JONES, D. L.; Quilliam, R. S.. Metal contaminated biochar and wood ash negatively affect plant growth and soil quality after land application *Journal of Hazardous Materials* 276 (2014) 362–370.

MATOS, R. C. et al. Nephrotoxicity effects of the wood preservative chromium copper arsenate on mice: Histopathological and quantitative approaches. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 23, n. 3, p. 224–230, 2009.

MCTAVISH, Michael J *et al.* Field and laboratory responses of earthworms to use of wood ash as a forest soil amendment. **Forest Ecology and Management**, ELSEVIER, v. 474, p. 1-10, 15 out. 2020. DOI <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118376>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378112720311452?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jun. 2022.

MULLER, M. D. Produção de madeira para geração elétrica numa plantação clonal de eucalipto em Itamarandiba, MG. 2005. 108 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NETTO, E. et al. Evaluation of the toxic and genotoxic potential of acid mine drainage using physicochemical parameters and bioassays. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 35, n. 3, p. 511–516, 2013.

OECD (2016), *Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (Eisenia fetida/Eisenia andrei)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264496-en>.

OECD. Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test, 2013. Disponível em: <http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-236-fish-embryo-acute-toxicity-fet-test_9789264203709-en>

OGA, S.; ZANINI, A. C. Fundamentos de toxicologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

OHGAMI, N. et al. Carcinogenic risk of chromium, copper and arsenic in CCA-treated wood. *Environmental Pollution*, v. 206, p. 456–460, 2015.

PASSAGLI, M. Toxicologia Forense: teoria e prática. 4. ed. [s.l.] Millennium, 2013.

PAOLIELLO, M. M. B.; SILVA, E. S. DA. Toxicodinâmica. In: As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: RiMa, 2003. p. 93–114.

PEDROZO, M. DE F. M. Toxicovigilância (monitorização) da exposição de populações a agentes tóxicos. In: As bases toxicológicas da ecotoxicologia. São Carlos: RiMa, 2003. p. 167–220.

RAPOSO, P. C. et al. Mechanical properties of wood construction materials from a building from the 19th century. *Procedia Structural Integrity*, v. 5, p. 1097–1101, 2017.

RINKE, K. H.; WIECHERING, H. Earthworm avoidance test for soil assessments: an alternative for acute and reproduction tests. *Soils & Sediments*, v. 1, n. 1, p. 15–20, 2001

SACHS, I. A revolução energética do século XXI. *Estudos Avançados*, v. 21, n. 59, p. 21–38, 2007.

SCUSSEL, RAHISA et al. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E TOXICOLÓGICA DE LIXIVIADO DE CINZAS PESADAS PROVENIENTES DA COMBUSTÃO DE MADEIRA TRATADA COM ARSENIATO DE COBRE CROMATADO TIPO C. Orientador: Claus Tröger Pich. 2020. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Santa Catarina, [S. I.], 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/215800>. Acesso em: 29 jun. 2022.

SHIAU, R. J.; SMITH, R. L.; AVELLAR, B. Effects of steam explosion processing and organic acids on CCA removal from treated wood waste. *Wood Science and Technology*, v. 34, n. 5, p. 377–388, 2000.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. LTC ed. Rio de Janeiro: [s.n.].

SINDIMADE. disponível em <http://www.sindimade.net.br/index.php/o-setor> Acesso em 14/08/18

SINGH, N. et al. A Simple Technique for Quantitation Damage in Individual of Low Levels of DNA Cells. *Experimental Cell Research*, v. 175, p. 184–191, 1988.

SKOOG, Douglas A. et al. Fundamentos de química analítica. São Paulo: Cengage Learning, 2015. xvii, 950 p

SOLO-GABRIELE, H. M. et al. Characteristics of chromated copper arsenate-treated

wood ash. *Journal of Hazardous Materials*, v. B89, p. 213–232, 2002.

SOMENSI, ESTELA CRISTINA, *Industrialização da madeira em construções residenciais*, 2004

SOUZA, Karina da Silva de. *Avaliação da toxicidade aguda da água e do solo em uma lavoura de vagem no município de Santo Amaro da Imperatriz*, 2008. Disponível em <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/124445>

STIERNSTRÖM, S. et al. An ecotoxicological approach for hazard identification of energy ash. *Waste Management*, v. 31, n. 2, p. 342–352, 2011.

TICE, R. R. et al. Single Cell Gel / Comet Assay : Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. *Environmental and molecular mutagenesis*, v. 35, n. 3, p. 206–221, 2000.

VIDAL, J. M. et al. *calyptus e Pinus* ,. *Ciência Florestal*, v. 25, n. 1, p. 257–271, 2015.

VM dos Santos, LC Maia - *Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agroômica*, vol 10, 2013. Disponível em <http://www.ead.codai.ufrpe.br/index.php/apca/article/view/397>

WASSON, S. J. et al. Emissions of chromium, copper, arsenic, and PCDDs/Fs from open burning of CCA-treated wood. *Environmental Science and Technology*, v. 39, n. 22, p. 8865–8876, 2005.