

Avaliação da toxicidade aguda de fluidos de corte utilizados em processos de usinagem usando como organismos-teste *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*

Alexandre Magno de Paula Dias
Débora Monteiro Brentano
Cátia Regina Silva de Carvalho-Pinto
William Gerson Matias*

Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – Laboratório de Toxicologia Ambiental
Centro Tecnológico – UFSC
CEP 88040 – 900 – Florianópolis (SC)
*Autor para correspondência
will@ens.ufsc.br

Submetido em 03/03/2005
Aceito para publicação em 15/02/2006

Resumo

Dentre os processos de manufatura das indústrias do setor metal-mecânico, as operações de usinagem ocupam uma parcela significativa nos meios produtivos, sendo que na usinagem convencional os fluidos de corte destacam-se como agentes de grande importância na melhoria do processo (benefícios na produtividade) e também como um dos principais responsáveis pelos aspectos nocivos ao meio ambiente. No sentido de contribuir para o conhecimento dos reais efeitos tóxicos destes produtos em ambientes aquáticos, o presente trabalho faz uma avaliação do potencial tóxico, através de testes de toxicidade aguda, de três diferentes tipos de fluidos de corte comercialmente utilizados, com três diferentes tempos de uso. Os testes foram realizados utilizando como organismo-teste o peixe *Poecilia reticulata* e o microcrustáceo *Daphnia magna*. Estes testes possibilitaram determinar a Concentração Letal Mediana (CL_{50}) para o peixe e a Concentração Efetiva Mediana (CE_{50}) para o microcrustáceo. Os resultados obtidos indicam que após armazenagem o potencial tóxico dos fluidos de corte reduz. Contudo, o produto, nas três situações avaliadas, possui potencial tóxico elevado o que reforça a necessidade de cuidados especiais no seu manuseio, utilização e descarte.

Unitermos: processos de usinagem, fluidos de corte, toxicidade aguda, *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*

Abstract

Acute toxicity evaluation of cutting fluids used in manufacturing processes to *Poecilia reticulata* and *Daphnia magna*. Grinding operations are very significant among the manufacturing processes of the metal-mechanic industry. In conventional grinding, cutting fluids are of great concern for improving productivity, but also for being hazardous to the environment. In order to contribute to the knowledge of the actual toxic effects of these products in aquatic environments, the present work assesses the toxicity potential through acute toxicity tests of three different kinds of cutting fluids, with three different usage times. The tests were carried out using the fish *Poecilia reticulata* and the microcrustacean *Daphnia magna* as test organisms. These tests made it possible to determine the Median Lethal Concentration (LC_{50}) for the fish and the Median

Effective Concentration (EC_{50}) for the microcrustacean. The results indicate that, after storage, the toxicity potential of cutting fluids decreases. However, in the three situations investigated, the product presented a high toxicity potential, which reinforces the need of special care in its handling, usage and disposal.

Key words: grinding processes, cutting fluids, acute toxicity, *Daphnia magna*, *Poecilia reticulata*

Introdução

Como parte integrante dos processos de manufatura industrial encontram-se os processos de usinagem, que basicamente consistem em dar forma a peças e acessórios através da remoção de material. Na grande maioria dos processos de usinagem é necessário o emprego de um agente – fluido de corte (F.C.) – que desempenha diversas funções com o propósito de se obter benefícios tecnológicos no processo (Drodzda e Wick, 1983).

Fluidos de corte se fazem presentes nas peças e nos cavacos após a usinagem. Os principais problemas originados pelos cavacos ocorrem devido ao derramamento de fluidos de corte no meio ambiente durante a armazenagem e transporte dos mesmos, com conseqüente possível contaminação do solo, lençol freático e rede de coleta de esgoto (Schamisso, 1992; Byrne, 1996).

O fato agrava-se quando o depósito é feito em locais sem cobertura, onde a água proveniente das chuvas arrasta para o solo e para os sistemas de água fluvial e subterrâneo diversos contaminantes e compostos químicos constituintes dos fluidos de corte, que são solúveis ou emulsionáveis em água, ocasionando danos ambientais mais graves do que poderia ser imaginado em uma análise mais simples e superficial. Além desse aspecto, custos elevados de disposição final e tratamento de fluidos de corte, aliados a pouca eficiência dos órgãos de fiscalização e controle de resíduos industriais, servem de estímulo para que usuários procedam de maneira inadequada no momento da disposição dos resíduos desses produtos. Dessa forma, resíduos de fluidos de corte são potenciais contaminantes de rios, lagos e terrenos baldios, comprometendo a qualidade da água e do solo.

Atualmente cresce na comunidade industrial a compreensão sobre a necessidade de se considerar os aspectos ambientais relacionados aos fluidos de corte, obtendo com isso vantagens econômicas e ecológicas. Diver-

sas instituições se ocupam com o desenvolvimento de tecnologia que possibilitem a minimização e eliminação do uso de fluidos de corte nos processos de usinagem (König et al., 1994; Klocke e Gerschwiler, 1996).

Entretanto, ainda há carência de informações quando se trata de uma análise qualitativa e quantitativa dos impactos ambientais ocasionados pela utilização desses produtos (Popke et al., 1999). A obtenção de parâmetros como, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio (DQO) e carbono total orgânico (CTO) entre outros, é importante no processo de monitoramento de efluentes industriais, como o fluido de corte, porém não é suficiente para descrever seus impactos no meio ambiente. A determinação dos efeitos tóxicos em organismos aquáticos causados pelo descarte de efluentes industriais é, portanto, um importante parâmetro na avaliação de impacto ambiental (Peng e Roberts, 2000). Esta avaliação é possível através da realização de testes de toxicidade crônica, testes de toxicidade aguda além de outros estudos de efeitos subletais (CETESB, 1988; Santojanni et al., 1995; Sanches et al., 1999; Peng e Roberts, 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar de forma preliminar a toxicidade de fluido de corte, através da determinação da Concentração Letal Mediana – CL_{50} para o peixe da espécie *Poecilia reticulata* Peters, 1859, e a Concentração Efetiva Mediana – CE_{50} para o microcrustáceo da espécie *Daphnia magna* Straus, 1820.

A CL_{50} é uma indicação da concentração que causa efeito letal em 50% dos organismos após um determinado período de exposição. Já a CE_{50} indica a concentração que causa imobilidade a 50% dos organismos após um determinado período de exposição. Optou-se pela utilização do peixe *Poecilia reticulata* como organismo-teste neste estudo por apresentar boa sensibilidade a contaminantes e ser facilmente encontrados em rios e lagoas do Brasil, apresentando portando resultados de

grande expressividade prática (CETESB, 1987). Já o microcrustáceo *Daphnia magna*, tem sido utilizado como instrumento para estimar toxicidade aguda de xenobióticos em ambientes aquáticos durante décadas por diversas razões: alta sensibilidade a diversos produtos tóxicos, facilidade de cultivo e manutenção das culturas, além de sua importância na cadeia alimentar (Michels, 1999; Klein, 2000; Peng e Roberts, 2000).

Material e Métodos

Três diferentes tipos de fluidos de corte, com diferentes tempos de uso (Tabela 1), foram selecionados para realização de testes agudos usando os organismos *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*. Os testes foram realizados no Laboratório de Toxicologia Ambiental do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina.

TABELA 1 – Fluidos de corte utilizados nos testes de toxicidade aguda.

Denominação	Fabricante	Características
Emulsão 1	A	Tipo sintético com óleo de base vegetal. Fluido de corte em estado novo
Emulsão 2	B	Tipo semi-sintético com óleo de base vegetal e mineral. Fluido de corte pronto para o descarte
Emulsão 3	B	Tipo semi-sintético com óleo de base mineral. Fluido de corte armazenado durante longo período (2 anos)

Os testes de toxicidade foram executados de acordo com as metodologias prescritas pelas normas elaboradas pela Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental – CETESB (Brasil) (L5.018, 1986 e L5.019-I, 1987) (CETESB, 1986; CETESB, 1987) e Norma DIN 38412 (DIN, 1989).

Os testes de toxicidade foram realizados com diferentes concentrações dos fluidos de corte e um controle, utilizando-se recipientes de vidro com capacidade de 2000mL nos testes com os peixes e em béqueres de 25mL nos teste 3 com os microcrustáceos.

Nos testes com os peixes, utilizou-se 5 organismos em cada concentração. Para os testes com os

microcrustáceos foram utilizados, em cada concentração, 10 organismos jovens (6 a 24 horas de idade), igualmente dispostos em dois béqueres. Em intervalos definidos procedeu-se a leitura dos testes, anotando-se o número de organismos mortos (peixes) e imóveis (microcrustáceos).

O cálculo da CL_{50} e CE_{50} ao final de cada teste, foi efetuado através da utilização dos métodos estatísticos Probit Method (Weber, 1993) para dados paramétricos e Trimmed Sperman-Karber Method (Hamilton et al., 1979) para dados não paramétricos a partir do número de organismos mortos (peixes) e imóveis (microcrustáceos).

Os resultados dos testes foram analisados estatisticamente utilizando o teste Mann-Whitney para comparar a toxicidade provocada pelas emulsões, ao nível de significância $\alpha = 0,05$.

Obtenção e cultivo dos organismos

Os peixes foram coletados em um lago da Universidade Federal de Santa Catarina isento de despejos de efluentes industriais ou com cargas tóxicas que possam alterar o metabolismo dos organismos ali presentes. Antes de se iniciar os testes, os organismos foram submetidos a um período de aclimação de uma semana às condições de laboratório em um reservatório (60L) contendo inicialmente 2/3 de água do lago e 1/3 de água de diluição, preparada pela dissolução de sais em água destilada ou deionizada. A água de diluição teve o pH controlado em $7,4 \pm 0,2$; dureza total de 40 a 48mg/ml em $CaCO_3$ e condutividade aproximada de 160S/cm (CETESB, 1986; CETESB, 1987). Baseado em trabalho anteriormente desenvolvido por Frello (1998), as concentrações de sais foram alteradas, seguindo recomendações da norma para *Daphnia* sp. da norma CETESB (CETESB, 1986), a fim de se obter os valores exigidos para pH, dureza e condutividade. Durante esta primeira semana, a água do reservatório foi substituída gradativamente por água de diluição. Em seguida, os organismos foram transferidos para dois reservatórios de vidro (30L cada) contendo somente água de diluição, com controle de temperatura (20 ± 2 °C).

Os microcrustáceos foram cultivados em recipientes de vidro com capacidade para 2.000mL, onde foram ali-

mentados diariamente com cultura de algas verdes *Scenedesmus subspicatus*, desenvolvida conforme metodologia elaborada por Frello (1998). A água utilizada para o cultivo dos microcrustáceos foi elaborada de acordo com o estabelecido pela norma DIN 38412 (DIN, 1989). Manteve-se a temperatura em 20 ± 2 °C, luminosidade em torno de 2000 lux e fotoperíodo de 16 horas.

Testes de sensibilidade dos organismos

Antes da realização dos testes preliminares e definitivos foram realizados testes para se determinar a sensibilidade dos lotes dos organismos através da determinação da CL_{50} -24h e CE_{50} -24 horas com o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) como substância de referência. Foram utilizadas as concentrações de 56; 110; 320; 480 e $800mg.L^{-1}$, além do controle com 100% de água de diluição, para os peixes e as concentrações de 0,4; 0,5; 0,85; 1,0; 1,3; 1,45; e $1,75mg.L^{-1}$, além do controle com 100% de água de diluição, para os microcrustáceos.

Foram considerados aptos para realização de testes de toxicidade os lotes de *Poecilia reticulata* que apresentaram CL_{50} 24h compreendida num intervalo de $\pm 2s$ (desvio-padrão), em relação aos valores médios anteriormente obtidos para mesma espécie (CETESB, 1987) e os lotes de *Daphnia magna* que apresentaram CE_{50} 24h de 0,9 a $2,1mg.L^{-1}$ de $K_2Cr_2O_7$ (DIN, 1989).

Testes preliminares

Testes preliminares foram realizados com os organismos com o objetivo de se estabelecer o intervalo das concentrações a serem utilizadas nos testes definitivos. Para cada tipo diferente de fluido de corte utilizou-se 5 concentrações além do controle com 100% de água de diluição.

Testes definitivos

A partir dos resultados obtidos dos testes preliminares com as emulsões 1, 2 e 3 foi possível definir as faixas de concentrações que posteriormente foram utilizadas nos respectivos testes definitivos. Foram realiza-

do 5 testes com *Poecilia reticulata* e 5 testes com *Daphnia magna* para cada um dos três diferentes tipos de emulsões.

Em todos os testes realizados, o controle (100% de água de diluição) não apresentou mortalidade ou imobilidade dos organismos, demonstrando qualidade satisfatória da água de diluição e dos organismos testes. Nas demais concentrações, realizou-se leitura registrando a mortalidade para os peixes, no período de 3, 6, 24 e 48 horas após o início do teste; e, para os microcrustáceos, anotou-se a imobilidade dos organismos nos períodos de 24 e 48 horas após iniciados os testes.

Resultados

Emulsão 1

Nos testes como peixe *Poecilia reticulata* utilizaram-se as concentrações 1,0; 1,3; 1,5; 1,8; 2,0; 2,2; 2,5 e 3,0% (porcentagem de fluido de corte contido na água de diluição).

Os resultados mostram que na concentração 1,0% o efeito agudo, quando ocorreu, foi mínimo. Já as concentrações acima de 2,5% causaram efeito letal em 100% dos organismos expostos, em 48h, em 80% dos testes realizados. A CL_{50} 24h e 48h média calculada para a emulsão 1 foi respectivamente de $2,3 \pm 0,1\%$ e $1,6 \pm 0,2\%$ (Figura 4).

Para os testes com o microcrustáceo *Daphnia magna* utilizaram-se as concentrações 0,1; 0,3; 0,5; 1,0 e 2,0%. Observou-se que mesmo a concentração de 0,1% produz efeito de imobilidade após 24h, e que as concentrações de 2% causam imobilidade de 100% dos organismos em 48h de exposição. A curva dose-resposta indica, na Figura 1, a resposta média dos organismos, no período de 48h, a cada uma das concentrações utilizadas. O valor médio da CE_{50} para um período de 48 horas de exposição estabeleceu-se em $0,2 \pm 0,06\%$.

Emulsão 2

Foram utilizadas as concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% para os ensaios com os peixes. Dos 5 ensaios realizados, dois foram descartados por não apresentarem resultados

de mortalidade adequados para o cálculo da CL_{50} . Em dois ensaios não houve efeito letal da substância nos organismos testes durante os períodos iniciais de 3 e 6 horas, mesmo para concentrações mais elevadas (4 e 5%). A concentração de 5% imobilizou 100% dos organismos em 48h de exposição. O valor médio da CL_{50} 24h e 48h para os diferentes testes estabeleceu-se respectivamente em $4,0 \pm 0,5\%$ e $2,8 \pm 0,6\%$ da emulsão 2 (Figura 4).

Para os testes com os microcrustáceos, foram utilizadas as concentrações de 0,01; 0,05; 0,08; 0,1; e 0,2%. A emulsão 2 provocou baixo efeito sobre a imobilidade em um período de 24h, não permitindo estabelecer a CE_{50} 24h. O valor médio da CE_{50} para um período de 48 horas de exposição estabeleceu-se em $0,1 \pm 0,05\%$. Observa-se na curva dose-resposta (Figura 2), o ponto em que 50% da população exposta é imobilizada.

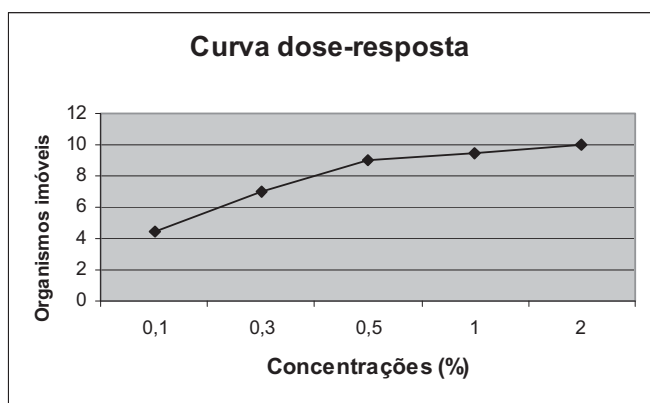


FIGURA 1: Curva dose-resposta do organismo-teste *Daphnia magna* a emulsão 1.

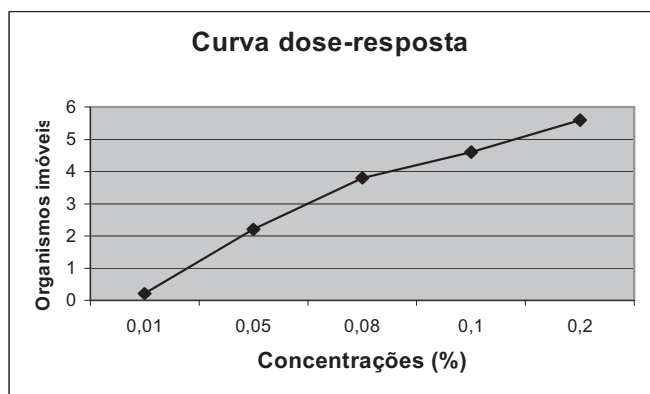


FIGURA 2: Curva dose-resposta do organismo-teste *Daphnia magna* a emulsão 2.

Emulsão 3

Para os testes com os peixes utilizou-se as concentrações de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8%. Os resultados mostram que, em período de exposição inferior a 24h, a emulsão 3, nas condições teste, não apresenta efeito agudo ao organismo-teste. A CL_{50} 24h e 48h média foi respectivamente de $6,2 \pm 0,9\%$ e $4,0 \pm 0,6\%$ (Figura 4).

Para os testes com os microcrustáceos utilizaram-se as concentrações de 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 2,0%. Após um período de 24 horas de exposição, foi possível estabelecer a CE_{50} em um dos testes realizados, sendo o valor da mesma 1,8%. Já CE_{50} média para exposição após 48 horas estabeleceu-se em $1,4 \pm 0,11\%$ da emulsão 3. A resposta média em 48h, a cada uma das concentrações testadas está representada graficamente na Figura 3.

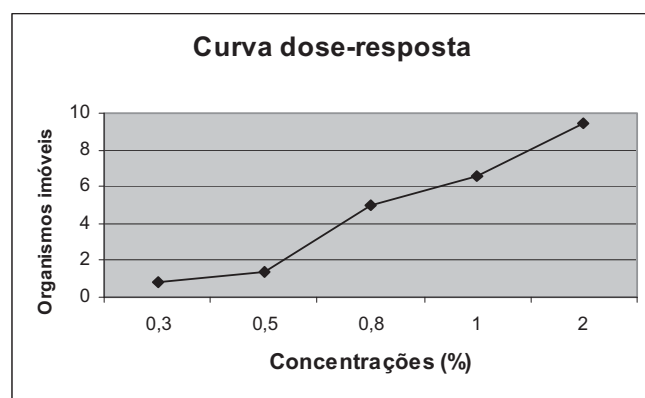


FIGURA 3: Curva dose-resposta do organismo-teste *Daphnia magna* a emulsão 3.

Em relação ao organismo-teste *Poecilia reticulata*, quando os dados são compilados e comparados (Figura 4), percebe-se que tanto em 24h como em 48h existe um efeito tóxico maior da emulsão 1. Além disso, a CE_{50} em 24h é maior que em 48h, indicando que o tempo de exposição aumenta o efeito tóxico de todas as emulsões com proporcionalidade.

Através do histograma abaixo (Figura 5) pode-se comparar os resultados de CL_{50} e CE_{50} 48h (valores médios) obtidos para cada uma das três diferentes emulsões, com os dois organismos-teste utilizados.

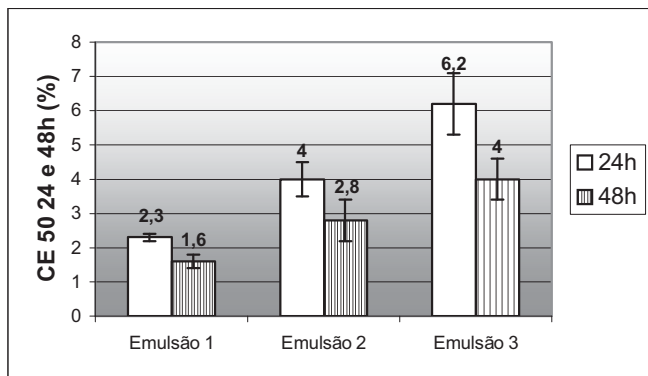


FIGURA 4: Média dos resultados de CE₅₀ 24h e 48h e respectivos desvios padrões das três emulsões testadas para o organismo-teste *Poecilia reticulata*.

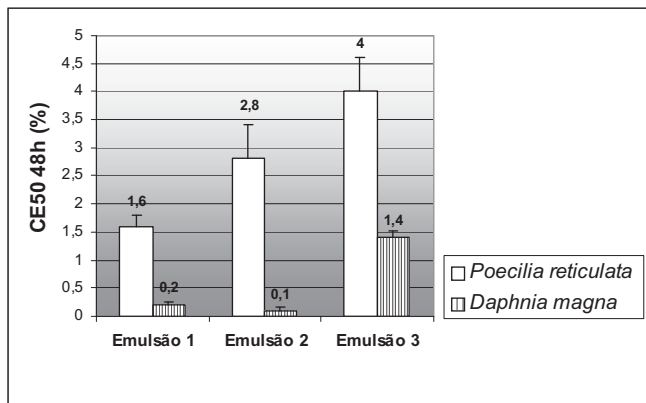


FIGURA 5: Média da CL₅₀ e da CE₅₀ 48h dos três tipos de fluidos de corte analisados para *Poecilia reticulata* e *Daphnia magna*.

Discussão

Os testes de toxicidade aguda com peixes e microcrustáceos mostraram que os três fluidos de corte analisados são altamente tóxicos, pois apresentaram baixa Concentração Letal (CL₅₀) para os peixes e também baixa Concentração Efetiva (CE₅₀) para os microcrustáceos.

O organismo-teste *Daphnia magna* apresentou maior sensibilidade às amostras testadas quando comparado com o *Poecilia reticulata*, o que era esperado diante de sua posição na cadeia trófica.

As emulsões 1, 2 e 3 provocam efeito tóxico significativamente diferente na população do organismo-teste *Poecilia reticulata*, podendo-se afirmar que a emulsão 1 é a mais tóxica e a 3 a menos tóxica ($P = 0,0357$ quando compara-se a 1 com a 2 e esta com a 3; $P = 0,0079$

quando compara-se a 1 com a 3). Em relação aos testes realizados com *Daphnia magna* a emulsão 3 é significativamente menos tóxica que a 1 e a 2 ($P = 0,0079$), enquanto que estas não apresentam diferença significativa ($P = 0,42$), sendo igualmente tóxicas.

É interessante observar que a emulsão 3, com maior grau de degradação (aproximadamente 2 anos armazenada), possui os menores índices de toxicidade para os dois organismos-teste (maiores valores para CL₅₀ e CE₅₀). Um possível esclarecimento para esse resultado pode estar relacionado com o fato de que os fluidos de corte oferecem condições favoráveis para a proliferação de bactérias e outros microorganismos (Lee e Chandler, 1941; Mattsby-Baltzer et al., 1989; Koch et al., 2004). Estes microorganismos se utilizam de compostos orgânicos presentes nos fluidos de corte como fonte de alimentação (Koch et al., 2004). É razoável supor que durante o longo período em que esteve armazenada, a emulsão 3 sofreu um processo de biodegradação de parte de sua carga tóxica. Este fato aponta para uma forma de tratamento destes produtos.

Resíduos de fluidos de corte possuem larga variação na sua composição química e toxicidade e são produzidos em grande quantidade pelas indústrias do setor metal-mecânico. O presente estudo revela que eles têm um potencial de poluição grave mesmo em baixas concentrações, portanto seu gerenciamento seguro é um dos pontos determinantes para o desenvolvimento das indústrias do setor metal-mecânico de forma ambientalmente correta no Brasil.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Referências

- Byrne, G. 1996. Usinagem em ambiente limpo: não se trata apenas de uma questão de higiene. **Revista Máquinas e Metais**, 363 (4): 66-80.
- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1986. **L5.018**. Água – Teste de toxicidade aguda com *Daphnia silimis* Claus, 1876 (Cladocera, Crustácea). São Paulo, Brasil, 28 pp.

- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1987. **L5.019-1**. Água – teste de toxicidade aguda com peixes – Parte 1 – Sistema Estático. São Paulo, Brasil, 29 pp.
- CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 1988. **Treinamento prático especializado: testes de toxicidade com organismos aquáticos de águas continentais**. São Paulo, Brasil, 220 pp.
- DIN – Deutsches Institut für Normung. 1989. **DIN 38412**: Testverfahren mit Wasserorganismen (gruppeL). Bestimmung der nicht akut giftigen Wirkung von Abwasser gegenüber Daphnien über Verdünnungsstufen. Deutschland, 13 pp.
- Drodzda, T., J.; Wick, C. 1983. **Tool and manufacturing Engineers Handbook – Machining**. 4th ed. Dearborn: Society of Manufacturing Engineers, Michigan, USA, 302 pp.
- Frello, C. P. 1998. **Avaliação da toxicidade aguda do agrotóxico carbofuran utilizando reativos biológicos: Poecilia reticulata e Daphnia magna**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 96 pp.
- Hamilton, M. A.; Russo, R. C.; Thurston, R. V. 1979. Trimmed Spearman-Kärber method for calculation of EC50 and LC50 values in bioassays. **Environmental Science Technology**, 7 (11): 114-119.
- Klein, B. 2000. Age as a factor influencing results in the acute daphnid test with *Daphnia magna* Straus. **Water Research**, 34 (5): 1419-1424.
- Klocke, F.; Gerschwiler, K. 1996. Trockenbearbeitung: Grundlagen, Grenzen, Perspektiven. **VDI Berichte**, 1240: 1-40.
- Koch, T.; Dias, A. M. P.; Rabenstein, A.; Walter, A. 2004. **Mikrobiologie der Kühlschmierstoffe – Einfluss auf die Leistung und Standzeit**. Proceedings of the 14th International Colloquium Tribology, Technische Akademie Esslingen, Vol III, Esslingen, Germany, p.13-15.
- König, W.; Osterhaus, G.; Rummenhöller, S.; Gerschwiler, K. 1994. Umweltprobleme mit Kühlschmierstoffen. Kühlschmierstoffe – eine ökologische Herausforderung an die Fertigungstechnik. **Technica**, 43 (23): 41-51.
- Lee, M.; Chandler, A. C. 1941. A study of the nature, growth and control of bacteria in cutting compounds. **Journal of Bacteriology**, 41: 373-386.
- Mattsby-Baltzer, I.; Sandin M.; Ahlstrom B.; Allenmark S.; Edebo M.; Falsen E.; Pedersen K.; Rodin N.; Thompson R. A.; Edebo L. 1989. Microbial growth and accumulation in industrial metal-working fluids. **Applied and Environmental Microbiology** 55 (10): 2681-2689.
- Michels, E.; Leynen, M.; Cousiyn, C.; de Meester L.; Ollevier, F. 1999. Phototatic behavior of *Daphnia* as a tool in the continuous monitoring of water quality: experiments with a positively phototatic *Daphnia magna* clone. **Water Research**, 33 (2): 401-408.
- Peng, G.; Roberts, J. C. 2000. Solubility and toxicity of resin acids. **Water Research**, 34 (10): 2779-2785.
- Popke, H.; Emmer, T. H.; Steffenhagen, J. 1999. Environmentally clean metal cutting process – machining on the way to dry cutting. **Proceedings of the MECH E Part B Journal of Engineering Manufacture**, 213 (3): 329-332.
- Sánchez, M.; Ferrando, M. D.; Sancho, E.; Andreu, E. 1999. Assesment of the toxicity of a pesticide with a two-generation reproduction test using *Daphnia magna*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C – Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, 124 (4): 247-252.
- Santojanni, A.; Gorbi, G.; Sartore, F. 1995. Prediction of Mortality in Chronic Toxicity Tests on *Daphnia magna*. **Water Research**, 29 (6): 1453-1459.
- Schamisso, A. 1992. Os cavacos contaminados podem até se tornar sucata rentável. **Revista Máquinas e Metais**, 314 (3): 28-31.
- Weber, C. I. 1993. **Method for measuring the acute toxicity of effluents and receiving water to freshwater and marine organisms**. EPA, Cincinnati, Ohio, USA, 253 pp.