



Simpósio Brasileiro De Biologia Marinha

APLICAÇÃO DA FASE I DO ESTUDO DE AVALIAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DA TOXICIDADE COM UMA AMOSTRA DE EFLUENTE INDUSTRIAL E AMOSTRA DE ÁGUA SUPERFICIAL DO PORTO DE SUAPE, PE, UTILIZANDO-SE O ENSAIO AGUDO COM O ROTÍFERO ESTUARINO *Brachionus rotundiformes*.

Badaro-Pedroso, C.1; Lavorante, B.R.B. O.2**; Bretas, E.3 ; Monteiro, E. A. S. 1; Bellomo, A.A.1; Guerra, H.P. del 1; Santos, J. M. 1*; Silva, T. F. da 1*

1 Instituto de Pesca, Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, São Paulo, Brasil pedrosos@pesca.sp.gov.br

2 Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil

3 Universidade Santa Cecília, Santos, São Paulo, Brasil

A primeira fase de um estudo de AIT destina-se à caracterização das propriedades físicas e químicas dos contaminantes presentes em uma amostra através de fracionamentos seguidos de ensaios de toxicidade. A comparação dos resultados das amostras submetidas às diferentes manipulações com a amostra não manipulada possibilita identificar os prováveis causadores da toxidez. O presente estudo tem como objetivo identificar a(s) classe(s) de compostos responsáveis pela toxicidade de uma amostra ambiental (água de superfície) do porto de SUAPE em Pernambuco e de uma única amostra do efluente de uma indústria metalúrgica (1%). As duas amostras, após ajuste de salinidade para 25 foram tratadas através dos seguintes fracionamentos: filtração (para remoção de material particulado), EDTA (metais), tiosulfato de sódio (oxidantes), alga *Ulva* sp e duas marcas de zeólitas para remoção, principalmente, de amônia, colunas de C18 e polimérica (orgânicos apolares). Foi realizado um ensaio de toxicidade aguda com o rotífero estuarino *B. rotundiformes* com o sulfato de cobre como substância de referência, e com cada uma das amostras não tratadas de água de superfície e do efluente, e também após os fracionamentos das duas amostras. O valor da CL50; 48h para *B. rotundiformes*, após exposição ao sulfato de cobre, foi de 0,22mg Cu/L(0,08-0,58) indicando sensibilidade semelhante aos valores obtidos em ensaios prévios. Os fracionamentos que reduziram a toxicidade da amostra de água superficial de SUAPE foram a filtração e a coluna de C18 com 80% de sobrevivência, seguidos pelo EDTA e *Ulva* com 60%. Para o efluente industrial, os fracionamentos que mais reduziram a toxicidade foram a coluna de C18 com 100% de sobrevivência dos rotíferos, tiosulfato com 70%, *Ulva* com 50% e filtração com 40%. Os resultados indicam que a amostra de SUAPE apresenta como os principais suspeitos pela toxicidade: material particulado, compostos orgânicos apolares, metais e amônia, enquanto a amostra de efluente apresenta como os principais grupos suspeitos por causar toxicidade, os compostos orgânicos apolares, oxidantes, amônia e material particulado.

Palavras chave: AIT (Avaliação e Identificação da Toxicidade), amostra marinha portuária, efluente industrial, rotífero *Brachionus rotundiformes*, sulfato de cobre.

Introdução

Os estudos visando a avaliação e identificação da toxicidade (AIT) de amostras coletadas nos ambientes marinhos, estuarinos e dulciaquícolas, como também de efluentes domésticos e industriais ainda são pouco difundidos no Brasil. No entanto, em outros países são amplamente utilizados devido a eficácia comprovada. Um estudo completo de AIT consiste de três fases: Caracterização, Identificação e Confirmação da toxicidade. A primeira fase de um estudo de AIT destina-se à caracterização das propriedades físicas e químicas dos contaminantes presentes em uma amostra através de fracionamentos seguidos de ensaios de toxicidade. A comparação dos resultados das amostras submetidas às diferentes manipulações com a amostra não manipulada possibilita identificar os prováveis

causadores da toxidez. O Brasil, com cerca de 8.000 Km de costa e com um desenvolvimento vertiginoso na área de ecotoxicologia marinha ao longo de duas décadas, possui três metodologias de ensaios de toxicidade, com organismos marinhos, padronizadas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas-ABNT, além das metodologias com organismos de águas continentais. No entanto, tem ocorrido uma procura crescente por metodologias de ensaios de toxicidade com organismos estuarinos, visando à avaliação e monitoramento ambiental desses ecossistemas.

Os rotíferos são considerados um dos mais importantes organismos alimento na aquicultura e várias pesquisas tem sido direcionadas ao aprimoramento do seu cultivo (MATSUMOTO et al, 2009). No Brasil, até o momento, os rotíferos têm sido utilizados como organismo-alimento na aquicultura, e em estudos de levantamento da diversidade para avaliação da qualidade da água de ambientes de água doce (GALVAO et al, 1998). No entanto, em outros países seu uso é comum como organismo teste em metodologias padronizadas para avaliação e monitoramento da qualidade de ecossistemas aquáticos, bem como de efluentes domésticos e industriais (ASTM, 2004). Estudos preliminares realizados por RODRIGO et al (2010) indicaram a elevada sensibilidade de *B. rotundiformes* ao sulfato de cobre, bem como sua tolerância a uma extensa faixa de salinidades variando de 5 a 40, em ensaios de toxicidade aguda de 48h de duração. O uso dessa metodologia de ensaio nos estudos de AIT apresenta diversas vantagens quando comparadas com outras metodologias de ensaios de toxicidade, como tamanho reduzido, sensibilidade elevada a vários contaminantes ambientais, baixo custo para sua execução, além de tolerância a uma ampla faixa de salinidade, possibilitando seu uso com amostras provenientes de ambientes estuarinos sem a necessidade de ajuste de salinidade. O presente estudo tem como objetivo caracterizar preliminarmente a(s) classe(s) de compostos responsáveis pela toxicidade de uma amostra ambiental marinha (água de superfície) proveniente de uma área portuária e de uma amostra do efluente de uma indústria metalúrgica (1%) utilizando-se a Fase I de um estudo de AIT e o ensaio de toxicidade aguda com *B. rotundiformes*.

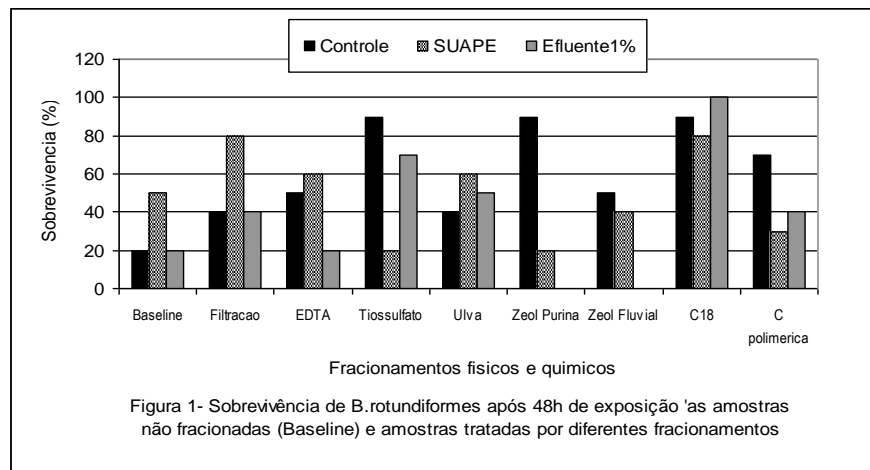
Material e métodos

O rotífero estuarino *B. Rotundiformes* é cultivado no Laboratório de Cultivo e de Bioensaios do Centro de Pesquisa em Peixes Ornamentais do Instituto de Pesca em São Paulo. O ensaio de toxicidade aguda com *B. rotundiformes* seguiu os procedimentos gerais descritos na Norma 15308 com misidáceos (ABNT, 2005), com adaptações referentes ao tipo de frasco, volume de amostra (4ml) e número de replicatas (10). Os ensaios são estáticos com 48 horas de duração e a água de diluição é fornecida pelo Aquário Municipal de Santos, filtrada em papel de filtro com porosidade de 3 µm, fervida e armazenada sob refrigeração no escuro. A substância de referência utilizada é o sulfato de cobre e o cálculo do valor da CL50; 48 horas é feito pelo método Trimmed Spearman-Kärber (HAMILTON et al., 1977). Foram feitas medidas de salinidade, pH e amônia com refratômetro ATAGO® e testes colorimétricos, respectivamente, em uma replicata do controle com água de diluição e de cada amostra de ensaio. Para a Fase I do estudo de AIT seguiram-se os procedimentos descritos em Badaró-Pedroso (1999) e Badaró-Pedroso & Rachid (2002), com adaptações. Foram realizados sete fracionamentos físicos e químicos com as amostras controle (água do mar filtrada, autoclavada e aerada), água superficial do porto de SUAPE e com efluente de uma indústria metalúrgica. Foi feito ajuste de salinidade das amostras do porto de SUAPE e do efluente com água destilada e salmoura, respectivamente até o valor de 25. A concentração final do efluente foi de 1%. Os fracionamentos consistiram de filtração, adições de EDTA e de tiosulfato de sódio, alga *Ulva* sp, Colunas C18 e polimérica, zeolitas das marcas Purina® e Fluviat®. Os ensaios foram conduzidos em câmara com temperatura controlada de 22±1°C e fotoperíodo de 12 horas.

Resultados e Discussão

Os resultados apresentados na Figura 1 indicam os principais fracionamentos responsáveis pela remoção e redução da toxicidade das amostras. Os fracionamentos responsáveis pela maior redução da toxicidade na amostra de 1% de efluente foram a coluna de C18 que removeu completamente a toxicidade, resultando em 100% de sobrevivência dos rotíferos, seguido pelo tiosulfato de sódio, *Ulva* e filtração. Embora a característica principal desse efluente seja a presença de metais catiônicos em concentrações que podem causar efeitos deletérios nos organismos, a manipulação que removeu a toxicidade da amostra foi a coluna de C18, responsável principalmente pela redução de compostos orgânicos. No entanto, também podem remover material filtrável que pode conter compostos adsorvidos as suas

partículas. OLIVEIRA (2004) ao estudar o mesmo efluente, obteve o EDTA como a única manipulação responsável pela redução da toxicidade das amostras após exposição dos ovos do ouriço do mar *Echinometra lucunter*. No entanto, todos os controles das manipulações resultaram em valores maiores que 80% de larvas pluteus desenvolvidas. No presente trabalho, foram observadas falhas nos controles das manipulações com EDTA, filtração, *Ulva* e coluna polimérica. Isto explica, parcialmente, a ineficácia do EDTA em reduzir a toxicidade decorrente da presença dos metais. O tiosulfato reduziu a toxicidade da amostra do efluente e apresenta como principal característica a redução de compostos oxidantes, como o cloro. No entanto, segundo HOCKETT & MOUNT (1996) ele também responde pela redução de outros metais, como cobre, mercúrio e cádmio, e especificamente prata e selênio. Observa-se na mesma figura que os controles das manipulações de C18 e tiosulfato apresentaram valores de sobrevivência maiores que 80%. Enquanto os outros controles, exceto a coluna polimérica e as zeolitas da marca Purina®, apresentaram valores de sobrevivência menores que 50% indicando a toxicidade da própria manipulação utilizada.



Em relação a amostra ambiental do porto houve redução referente aos tratamentos com C18 e filtração, com sobrevivência de 80%, seguidos pelo EDTA e a *Ulva* com sobrevivência de 60%, indicando a provável presença de compostos orgânicos, material particulado, metais e amônia. Embora ainda sejam resultados preliminares, pois as amostras foram coletadas somente uma vez, há a necessidade de mais experimentos para a confirmação dos dados obtidos.

Conclusões

O uso do ensaio com *B. rotundiformes* mostra-se adequado para estudos de AIT.

As principais manipulações responsáveis pela redução e remoção da toxicidade das amostras foram a coluna de C18 e o tiosulfato, indicando a importância dos controles na interpretação do resultados, já que a coluna de C18 reduz a presença de compostos orgânicos.

Referencias

ABNT, 2005 NBR 15308. 2005 Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Metodo de ensaio com misidaceos (Crustácea).

ASTM E1440-91. 2004 Standard guide for acute toxicity test with the rotifer *Brachionus*.

Badaró-Pedroso, Cíntia ; Rachid, B.R.F. . TIE - Técnicas para identificação de agentes tóxicos em amostras líquidas. In: Iracema Andrade Nascimento; Eduinety Ceci Pereira. (Org.). Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil. São Paulo: editora Artes Gráficas e Indústria Ltda, 2002, v.p.1-262.

FIELDER, D.S.; PURSER, G.J.; BATTAGLENE, S.C 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis* **Aquaculture, Z189: 85–99.**

GALVAO, M. S. N.; BARRETO, O.J.S.; YAMANAKA, N. 1998. **Cultivo Intensivo dos rotiferos *Brachionus plicatilis* O.F. MULLER, 1786 e *Brachionus rotundiformes* TSCHUGUNOFF, 1921 (ROTIFERA, BRACHIONIDAE).** Boletim Técnico, 24. São Paulo, Instituto de Pesca, Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Agradecimentos: *Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica-PIBIC/ CNPq/ Instituto de Pesca. ** Programa de pos graduação em Oceanografia pela bolsa de Doutorado do CNPq.