

Análise dos efeitos dos derivados de cloro em seres vivos de diferentes níveis tróficos

Ana Guerreiro e Milo Vince 12^ºA

Escola Secundária Dr. Manuel Candeias Gonçalves

Coordenadora: Paula Canha

Ano letivo 2018/2019

Resumo

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é um dos produtos derivados do cloro mais utilizados pelo ser humano na atualidade. Neste estudo foi avaliada a toxicidade do hipoclorito de sódio em seres vivos de dois níveis tróficos, um herbívoro - *Potamopyrgus antipodarum* (caracol aquático) e um detritívoro - *Dugesia gonocephala*. A toxicidade foi estimada através da mortalidade nos seres vivos.

As planárias *D. gonocephala* são a espécie mais sensível ao tóxico seguidas pelos caracóis *P. antipodarum*. Para *D. gonocephala* uma concentração de 0,05 mg/L basta para causar 50% de mortalidade (CL50) enquanto para *P. antipodarum* é necessária uma concentração entre os 2 e os 5 mg/L para causar a mesma mortalidade, à mesma temperatura.

Introdução

O hipoclorito de sódio (NaOCl) é um dos produtos derivados do cloro mais utilizados pelo ser humano na atualidade. As suas aplicações são vastas: branqueamento de celulose e têxteis, tinturaria, limpeza, lavagem de frutas e legumes, produção de diversos químicos (oxidantes, branqueadores e desinfetantes), tratamento de águas (nomeadamente em desinfeção e esterilização), ação algicida e desodorização de águas industriais, água potável e piscinas. Quando o hipoclorito de sódio é adicionado à água, forma hidróxido de sódio, ácido hipocloroso (HOCl) e o ião hipoclorito (OCl⁻). O ácido hipocloroso e o ião hipoclorito são ambas formas de cloro livre, também denominados de cloro disponível ou cloro ativo. No entanto, o ácido hipocloroso é mais eficaz como desinfetante (Solvay, 2013).

De acordo com a ficha de dados de segurança do fabricante Solvay, bastaria uma exposição de 96 horas a uma concentração de hipoclorito de sódio de 0,1mg/l para inibir o crescimento de 50 % da alga *Myriophyllum spicatum*, um produtor, e de 0,06 mg/l para causar 50% de taxa de mortalidade ao peixe *Salmo gairdnerital*, um ser vivo do terceiro nível trófico. Para o crustáceo *Daphnia magna*, um consumidor de primeira ordem, foi necessária a exposição a uma concentração de 0,141 mg/l durante 48 horas para causar 50% de mortalidades (Solvay, 2013).

No nosso teste de toxicologia utilizámos dois seres vivos: as planárias *Dugesia gonocephala* e os caracóis aquáticos *Potamopyrgus antipodarum*.

As planárias são seres vivos pertencentes geralmente ao terceiro nível trófico – consumidores de segunda ordem. Alimentam-se de restos de seres vivos mortos. Têm vindo a ser utilizadas para avaliar os efeitos adversos de diferentes substâncias químicas e amostras ambientais, porém há grande diversidade metodológica (Ribeiro, 2012). A espécie *D. gonocephala* é caracterizada como sendo uma “super-espécie”, composta por múltiplas subespécies encontradas na Europa, em África e na Ásia. Estas subespécies apresentam diferenças apenas ao nível do material copulatório (De Vries & Ball, 1980). Vive em águas doces e bem oxigenadas, sob as pedras. É uma espécie lucífuga.

P. antipodarum é uma espécie invasora pertencente ao segundo nível trófico – consumidores de primeira ordem. A sua alimentação tem por base detritos orgânicos e microalgas. Têm uma concha castanha ou cinzenta, por vezes um pouco transparente, alongada. Habitualmente a

concha tem cerca de 3-6 mm de altura e 2-3mm de largura com 4 a 5 voltas convexas, com um opérculo oval e um corpo esbranquiçado (Santos, 2018).

Material e métodos

Foram realizados dois ensaios de toxicologia aguda, um para *D.gonocephala* e outro para *P. Antipodarum*.

Em ambos os casos, fez-se um primeiro ensaio que consistiu num teste prévio realizado com o objetivo de acertar as concentrações que seriam usadas no ensaio final de toxicologia aguda.

Em cada ensaio os seres vivos foram sujeitos a quatro concentrações diferentes, mantendo a luminosidade e a mesma temperatura ambiente.

Material Biológico

- Planárias (*D. gonocephala*)
- Caracóis (*P. Antipodarum*)

Material de laboratório

- Tinas de plástico;
- Gobelé
- 4 Provetas de 500 ml;
- Conta-gotas;
- Micropipetador de 20-200 µl com as respetivas pontas;
- Micropipetador de 0-20 µL com as respetivas pontas;
- Pinça;
- Película aderente

Reagentes

- Lixívia
- Água do canal de rega do perímetro de rega do Mira (PRM)

Experiência 1 – Análise dos efeitos dos derivados do cloro nas planárias (*Dugesia gonocephala*)

1. Ensaio prévio para testar as concentrações do teste de toxicologia aguda final

- 1.1 Preparar três soluções de hipoclorito de sódio utilizando água do PRM (0,05; 0,1 e 1 mg/L);
- 1.2 Preparar uma tina para cada uma das concentrações preparadas e uma tina para o controlo (apenas água do canal de rega do perímetro de rega do Mira);
- 1.3 Submeter 10 planárias a cada concentração;
- 1.4 Manter os ensaios com o mesmo pH e luminosidade, à mesma temperatura, à temperatura ambiente (entre 10 e 15°C);
- 1.5 Após 24 e 48 horas verificar a taxa de mortalidade;
- 1.6 Caso as concentrações anteriormente referidas se revelem demasiado tóxicas (mais de 50% de mortalidade nas concentrações intermédias e 100% de mortalidade na concentração superior), realizar um novo ensaio com concentrações inferiores.

2 Ensaio de toxicologia aguda final

- 2.1 Preparar três soluções de hipoclorito de sódio utilizando água do PRM (0,05; 0,1 e 0,5 mg/L) ;
- 2.2 Preparar uma tina para cada uma das concentrações e uma tina para o controlo (apenas água do canal de rega do perímetro de rega do Mira);
- 2.3 Submeter 10 planárias a cada concentração;
- 2.4 Manter os ensaios com o mesmo pH e luminosidade, à mesma temperatura, à temperatura ambiente (entre 10 e 15°C);
- 2.5 Após 24 e 48 horas verificar a taxa de mortalidade.

Experiência 2 – Análise dos efeitos dos derivados de cloro nos caracóis (*Potamopyrgus antipodarum*)**1. Ensaio prévio para testar as concentrações do teste de toxicologia aguda final**

- 1.1. Diluir a lixívia em 4 concentrações diferentes (2; 5 e 8 mg/L), usando água do PRM;
- 1.2. Submeter 10 caracóis a cada concentração;
- 1.3. Manter os ensaios com o mesmo pH e luminosidade, à mesma temperatura, à temperatura ambiente (entre 10 e 15°C).
- 1.4. Após 24 e 48 horas verificar a taxa de mortalidade;
- 1.5. Caso as concentrações anteriormente referidas se revelem demasiado tóxicas (mais de 50% de mortalidade nas concentrações intermédias e 100% de mortalidade na concentração superior), realizar um novo ensaio com concentrações inferiores.

2. Teste de toxicologia aguda final

- 2.1. Preparar uma tina para cada uma das concentrações (3,5; 4 e 4,5 mg/L) e uma tina para o controlo (apenas água do canal de rega do perímetro de rega do Mira);
- 2.2. Submeter 10 caracóis a cada concentração;
- 2.3. Manter os ensaios com o mesmo pH e luminosidade, à mesma temperatura, à temperatura ambiente (entre 10 e 15°C).
- 2.4. Após 24 e 48 horas verificar a taxa de mortalidade.

Resultados e discussãoExperiência 1 – Análise dos efeitos dos derivados do cloro nas planárias *D. ganocephala*

Os resultados (taxa de mortalidade) do ensaio prévio com planária encontram-se na Tabela I. Os resultados do teste de toxicologia aguda na planária encontram-se na Tabela II.

Tabela I - Resultados teste prévio com planárias – taxa de mortalidade

	Controlo	0,05 mg/L	0,1 mg/L	1 mg/L
24 HORAS	0%	0%	0%	100%
48 HORAS	0%	0%	0%	100%

Através do ensaio prévio chegamos à conclusão que o valor CL50 (concentração que causa 50% de mortalidade) deveria estar entre 0,1 mg/L e 1 mg/L.

Tabela II - Resultados teste toxicologia aguda em planárias – taxa de mortalidade

	Controlo	0,05 mg/L	0,1 mg/L	0,5 mg/L
24 HORAS	0%	0%	0%	20%
48 HORAS	10%	0%	0%	50%

No ensaio final usamos as concentrações de 0,05mg/L; 0,1mg/L e 0,5 mg/L, os resultados obtidos mostram que:

- 0,05 mg/L não é uma concentração letal para as planárias;
- 0,1 mg/L não é uma concentração letal para as planárias;
- 0,5 mg/L é a concentração que causa 50% de mortalidade nas planárias CL50.

Experiência 2 – Análise dos efeitos dos derivados de cloro nos caracóis (*Potamopyrgus antipodarum*)

Os resultados (taxa de mortalidade) do ensaio prévio com os caracóis encontram-se na Tabela III. Os resultados do teste toxicologia aguda encontram-se na Tabela IV.

Tabela III – Resultados do teste prévio com caracóis – taxa de mortalidade

	Controlo	2 mg/L	5 mg/L	8 mg/L
24 HORAS	0%	0%	10%	50%
48 HORAS	0%	0%	70%	100%

Ao realizar os testes prévios chegamos à conclusão que o valor CL50 (concentração que causa 50% de mortalidade) deveria estar entre 2mg/L e 5mg/L.

Tabela IV – Resultados do teste de toxicologia aguda com caracóis - taxa de mortalidade

	Controlo	3,5 mg/L	4 mg/L	4,5 mg/L
24 HORAS	0%	50%	50%	50%
48 HORAS	20%	80%	100%	100%

Através do ensaio prévio chegamos à conclusão que o valor CL50 (concentração que causa 50% de mortalidade) deveria estar entre 2 mg/L e 5 mg/L.

No ensaio final usamos as concentrações de 3,5; 4,0 e 4,5 mg/L, os resultados obtidos mostram que:

- 3,5 mg/L causa não é uma concentração letal para os caracóis;
- 4 mg/L é uma concentração totalmente letal para os caracóis;
- 4,5 mg/L é uma concentração letal para os caracóis.

De acordo com os resultados do teste prévio, nenhuma das concentrações do teste toxicológico deveria ser 100% letal para os caracóis, uma vez que no ensaio prévio os 5 mg/L causaram apenas 70% de mortalidade. Uma das possíveis explicações para este acontecimento relaciona-se com o conteúdo do trabalho desenvolvido pelo grupo dos nossos colegas Inês, André e Joana, que mostraram que uma maior temperatura provoca um aumento na mortalidade dos seres vivos sujeitos a substâncias tóxicas. De facto, quando o ensaio toxicológico foi realizado, as temperaturas do ar rondavam os 30 graus, enquanto no ensaio prévio as temperaturas do ar eram inferiores aos 20 graus. Isto terá certamente influenciado a temperatura da água, o metabolismo dos animais e a toxicidade do hipoclorito de sódio.

Discussão e conclusão

Comparando as experiências com as duas espécies, podemos afirmar que as planárias, consumidores de segunda ordem, são mais sensíveis ao hipoclorito de sódio que os caracóis, consumidores de primeira ordem.

Pelo contrário, nos resultados obtidos por Bicho, et al. (2011) as espécies mais sensíveis ao tóxico eram as espécies do segundo nível trófico. Esta diferença deve-se ao facto de a sensibilidade às substâncias tóxicas não estar apenas relacionada apenas com o nível trófico ocupado pelos seres vivos, mas com as características anatómicas e fisiológicas de cada espécie, que lhe conferem maior ou menor sensibilidade a determinados poluentes. Neste caso, como se trata de um tóxico que não se bioacumula, o nível trófico não terá tanta importância no nível de toxicidade.

De acordo com bibliografia consultada, em zonas de elevado tráfego marítimo e recetoras de lastro tratadas com HS (hipoclorito de sódio), as doses do mesmo podem ultrapassar as 2mg/L (Bicho, et al., 2011). Este valor ultrapassa bastante o valor CL50 para as planárias, pelo que se conclui que não será difícil encontrar na natureza valores de hipoclorito de sódio que são letais para as planárias. Como seres vivos pertencentes a uma cadeia alimentar, uma alteração numa dos elos da cadeia influencia todos os outros seres vivos do ecossistema.

BIBLIOGRAFIA

Bicho, R. C., Jessica, L. C., Fernanda, P. L., Sakchai, M., Rhaul, O., Amadeu, S. M., et al. (2011). Efeito do hipoclorito de sódio em diferentes níveis tróficos do ambiente aquático. *CAPTAR*, pp. 78-88.

De Vries, E. ..., & Ball, I. R. (1980). On *Dugesia Gonocephala* From Western Europe. *Bijdragen tot de Dierkunde*, 50, pp. 342-350.

Ribeiro, A. R. (2012). *Potencial do Uso de Planárias na Avaliação de Contaminantes Ambientais*. Limeira.

Santos, J. A. (2018). *Guia de Invertebrados das águas doces* (Vol. 5). Algarve: Almargem.

Solvay. (Abril de 2013). Ficha de Dados de Segurança hipoclorito de Sódio 2.4. Portugal.