XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

OTIMIZAÇÃO DO TESTE DE TOXICIDADE COM O ANFÍPODE MARINHO *PARHYALE HAWAIENSIS* MINIATURIZADO

Letícia Lawall Dornelas*, Anjaína F. de Albuquerque, Gisela de Aragão Umbuzeiro

Resumo

O trabalho consiste na implementação de melhorias em ensaios de toxicidade aguda em microplaca com o anfípode marinho *Parhyale hawaiiensis*, visando o atendimento dos protocolos internacionais que requerem que o coeficiente de variação entre os ensaios realizados seja menor que 30%. Foram utilizados como substâncias teste os metais: zinco, cobre e cádmio. A variabilidade entre os ensaios de toxicidade aguda em microplaca para os três metais estudados encontram-se abaixo do valor máximo recomendado (menor que 30%). Conclui-se que as mudanças realizadas nos procedimentos de preparo e montagem de testes contribuíram positivamente para obtenção de resultados satisfatórios.

Palavras-chave:

Teste de toxicidade, anfípode, contaminação água.

Introdução

A realização de ensaios ecotoxicológicos com *Parhyale hawaiiensis*, um crustáceo anfípode que vive em ambientes marinhos e é amplamente distribuído pelo litoral brasileiro é de extrema importância na determinação da toxicidade de metais e seus efeitos para a biota de meios aquáticos (REHM et al., 2012). Com a miniaturização de ensaios toxicológicos é possível obter resultados para efeitos agudos das substâncias analisadas (zinco, cobre, e cádmio) de forma que os resíduos gerados e o tempo para a realização de cada teste sejam reduzidos.

A miniaturização de ensaios ecotoxicológicos abrange os preceitos dos 3Rs (refinement, reduction and replacement) pois reduz a quantidade de resíduos gerados e o tempo gasto na realização dos procedimentos (BAUMANN et al., 2014). O método a ser desenvolvido neste trabalho consiste em buscar formas alternativas que produzam menos resíduos químicos, aumentem a representatividade dos dados, sejam mais simples e baratos. Preferencialmente, os organismos devem ser facilmente manipuláveis, detectáveis e de fácil observação.

Resultados e Discussão

Foram realizados ensaios de toxicidade aguda com os metais zinco, cádmio e cobre ao longo de um ano, determinando-se assim a CL50 e o coeficiente de variação entre os testes realizados. A média e o coeficiente de variação foram calculados. Os organismos utilizados no ensaio passaram a ser expostos às soluções teste antes de serem transferidos à microplaca. A estabilidade das soluções estoque (concentração e pH) foram testadas ao longo de um mês através da técnica analítica de Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (APHA, 1999). Para aquelas que não tiveram suas concentrações alteradas, pôde-se preparar e armazenar em condições adequadas um volume de solução estoque suficiente para ser utilizado ao longo de um mês, com o objetivo de diminuir a variação associada ao seu preparo a cada teste. Verificou-se que a solução de Sulfato de Zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, Sigma, $\geq 99\%$) e de Nitrato de Cádmio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, Vetec, 99%) mantiveram-se estáveis (100 mg/L) ao longo de um mês,

enquanto que a solução de Cloreto de Cobre ($\text{Cl}_2\text{Cu} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma, $\geq 99\%$) teve sua concentração diminuída de 100 mg/L para 88 mg/L, não podendo ser armazenada. O método utilizado para a obtenção da CL50, com um intervalo de confiança de 95%, foi o Trimmed Spearman-Kärber, do programa estatístico Jspcar. Foi utilizado o Excel para obtenção do desvio padrão e do coeficiente de variação. Foram realizados oito ensaios para cada um dos metais. Para o cádmio observou-se uma CL50 média de 0,38 mg/L, desvio padrão de 0,07 e coeficiente de variação de 18%. Para o zinco, uma CL50 média de 1,47 mg/L, desvio padrão de 0,19 e coeficiente de variação de 13%. E para o cobre, uma CL50 média de 2,37 mg/L, desvio padrão de 0,33 e coeficiente de variação de 13%.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos, pode-se avaliar que a variabilidade entre os ensaios de toxicidade aguda em microplaca para os três metais encontram-se dentro do intervalo esperado (menor que 30%), sendo possível concluir que as mudanças realizadas nos procedimentos de preparo e montagem de testes contribuíram positivamente para que se obtenha melhores resultados.

Agradecimentos

Agradeço a toda equipe de pesquisa e ao corpo docente responsável pelo suporte prestado na elaboração e desempenho do projeto. Agradeço também à minha família pelo apoio e incentivo oferecido durante todo período do projeto.

APHA. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. American Water Works Association, Water Environmental Federation. Seção 3500-Zn B. 20ª edição. 1999.

BAUMANN, J.; SAKKA, Y.; BERTRAND, C.; KOSER, J.; FILSER, J. Adaptation of the *Daphnia* sp. acute toxicity test: miniaturization and prolongation for the testing of nanomaterials. Environmental Science and Pollution Research. Bremen, Alemanha. 2013.

REHM, E. J.; HANNIBAL, R. L.; CHAW, R. C.; VARGAS-VILA, M. A.; PATEL, N. H. The crustacean *Parhyale hawaiiensis*: a new model for arthropod development. Cold Spring Harb Protocols. Berkeley, Estados Unidos. 2009.

DOI: 10.19146/pibic-2017-79150

XXV Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP