

VI-1280 – TOXICIDADE AGUDA EM ORGANISMOS MARINHOS DE AMOSTRAS CONTAMINADAS POR MICROPLÁSTICOS

Daniele Maia Bila⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Mestre, Doutora em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Profa. Associada do Depto.de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da FEN/UERJ.

Tainá da Conceição Pereira⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Doutoranda em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Louise da Cruz Felix Valadares⁽¹⁾

Engenheira Cartográfica pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Doutoranda em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Nathalia Salles Vernin Barbosa⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). Farmacêutica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro. Mestre, Doutora em Engenharia Química pela UERJ. Profa. Adjuntado Depto.de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da FEN/UERJ.

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier, 524, Pavilhão João Lyra Filho, 5ºandar, bloco F, sala 5029F, Maracanã – Rio de Janeiro – RJ – CEP: 20.550-011 - Brasil - e-mail: danielebila@eng.uerj.br

RESUMO

Os microplásticos são encontrados em todos os continentes e em diferentes matrizes, tais como oceanos, rios, praias, sedimentos, esgoto, água potável, ar e alimentos. Estes compostos são enquadrados na classe de contaminante emergente, pois seus impactos quanto a poluição e seus efeitos nos organismos marinhos são umas das preocupações recentes da comunidade científica e da sociedade. Assim, elucidar como os organismos marinhos são afetados por microplásticos é importante para entender a extensão dos impactos ambientais desses materiais. Dessa forma, neste trabalho avaliou-se a toxicidade aguda em organismos marinhos em amostras contaminadas por diferentes tipos de microplásticos de polietileno em diferentes concentrações. Foram utilizados três tipos de microplásticos, com diferentes cores e tamanho da partícula. As amostras foram contaminadas com 3 concentrações diferentes de microplástico, 25 mg/L, 100 mg/L e 2,5 g/L. Os ensaios agudos de ecotoxicidade foram realizados com dois organismos-testes. Sendo eles o microcrustáceo marinho *Artemia sp* e a bactéria marinha bioluminescente *Vibrio fischeri*. O bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* não indicou toxicidade aguda nas amostras contaminadas com microplásticos de polietileno, enquanto o bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* apresentou maior efeito com as amostras de PE1, indicando que a toxicidade das partículas de microplástico aumenta com o aumento da concentração de microplástico e com a diminuição do tamanho das partículas.

PALAVRAS-CHAVE: Microplásticos; Ecotoxicidade Aguda; Impacto Ambiental;

INTRODUÇÃO

A poluição por microplásticos é uma preocupação recente da sociedade. Os microplásticos foram detectados em diferentes matrizes tais como oceanos, rios, praias, sedimentos, esgoto, água potável, ar e alimentos (IVAR DO SUL, 2014; KOSUTH et al., 2018 CARR et al, 2016). Esse poluente também foi encontrado dentro de diferentes organismos marinhos como tartarugas, peixes, aves marinhas, crustáceos, além de terem sido encontrados nos seres humanos, como no pulmão, na placenta e nas fezes humanas (RAGUSA et al., 2021; AMATO-LOURENÇO et al., 2021; YAN et al., 2021).

A produção, o consumo e consequentemente o descarte de plásticos continua aumentando desde o início da sua produção na década de 1950. O estilo de vida atual baseado no consumo e na praticidade, bem como o baixo custo, a versatilidade, a leveza e a durabilidade desse material são alguns dos fatores que favorecem esse crescimento constante. A pandemia mundial de COVID-19 foi mais um agravante no crescimento do uso de materiais plásticos descartáveis (LEE & KIM, 2022; LEAL FILHO et al., 2021). A produção mundial de plástico em 2021 foi de 390, 7 milhões de toneladas (PLASTIC EUROPE, 2022).

Os microplásticos presentes em ambientes marinhos podem ser ingeridos pela biota marinha, além de transportar outros poluentes presentes em ambientes aquáticos para outras regiões devido às suas propriedades hidrofóbicas (TEUTEN et al., 2009). Esses poluentes podem ser metais, compostos orgânicos persistentes, desreguladores endócrinos, fármacos, entre outros.

Nesse contexto, conhecer como os organismos marinhos são afetados pelos microplásticos é de suma importância para entender a extensão dos impactos ambientais desses materiais e auxiliar na construção de novas legislações e normas para melhorar a qualidade das águas em relação a esses materiais. Para tal, os ensaios ecotoxicológicos são usados de modo a realizar um diagnóstico da qualidade ambiental e do controle da poluição. No mais, entender como as metodologias atuais para ensaios ecotoxicológicos podem ser adaptadas e quais dificuldades podem ser observadas durante a realização dos ensaios com microplásticos corrobora para que as normas e protocolos de qualidade de águas contemplem esse poluente emergente.

Assim, neste trabalho foi avaliada a toxicidade aguda em organismos marinhos em amostras contaminadas por diferentes tipos de microplásticos de polietileno em diferentes concentrações.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 3 tipos de microplástico, conforme a Tabela 1.

Tabela 1: Tipos de microplásticos utilizados nos bioensaios.

Microplástico	Cor	Densidade (g/cm ³)	Tamanho da partícula (µm)	Fabricante
PE1	Branco	0,94	34 – 50	<i>Sigma-Aldrich</i>
PE2	Verde	1,00	150 – 180	<i>Cospheric</i>
PE3	Amarelo	1,00	63 – 75	<i>Cospheric</i>

No bioensaio com microcrustáceo *Artemia sp* foram utilizadas amostras contaminadas com PE1 e PE2 em três concentrações diferentes, 25 mg/L, 100 mg/L e 2,5 g/L. Foram preparados 100 mL de cada amostra utilizando água do mar sintética (pH = 8,2 e salinidade = 36 ppt) e em seguida adotou-se a metodologia descrita na ABNT NBR 15469 (ABNT, 2021). As amostras foram divididas em 4 replicatas de 15 mL cada.

A eclosão dos cistos de *Artemia sp* foi realizada previamente em funil de separação dentro de uma incubadora com temperatura controlada a 25±2°C e na ausência de luz, adicionando 1.000 mL de água do mar sintética e 0,3 g de cistos desidratados de *Artemia sp*, por 48 horas. Em seguida, 10 náuplios de *Artemia sp* foram randomicamente distribuídos em cada recipiente-teste. O controle foi realizado com o mesmo lote de água do mar sintética e submetido aos mesmos parâmetros das amostras. O ensaio foi incubado a 25±2°C na ausência de luz por 48 horas. Ao final do período de exposição foram contabilizados o número de organismos vivos, o pH e condutividade de cada amostra. O resultado foi calculado em percentual de letalidade observada e submetida ao teste-t para avaliar a diferença de efeito observado de cada amostra em relação ao controle.

No bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* foram utilizadas amostras contaminadas com PE1, PE2 e PE3. A concentração de microplásticos foi de 300 mg/L. A metodologia aplicada seguiu o descrito na ABNT NBR 15411-3 (ABNT, 2021). Para a incubação e leitura de bioluminescência foi utilizado o equipamento Microtox M500 com uso de cubetas de borossilicato para minimizar a interação da amostra com o recipiente-teste. As amostras foram diluídas em série com razão de 1,5 compondo 5 concentrações em duplicata com solução de 2% de NaCl (m/v), solução também utilizada como controle do ensaio. Para concentração analisada foi adicionado 10 µL de solução de bactéria diluída nas cubetas de ensaio e a bioluminescência foi medida. Em seguida, 900 µL de solução-teste foram adicionados em cada um dos recipientes e deixados em incubação a 15 ± 2°C por 30 minutos. Os resultados foram calculados a partir das

respostas da diminuição da emissão de luz das bactérias nos tempos 0 e 30 minutos através do software Microtox OMNI 4.1.

RESULTADOS

O bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* foi realizado com PE1 (Figura 1) e PE2 (Figura 2). As amostras contaminadas com PE1 apresentaram maior dificuldade para contagem dos organismos vivos ao final das 48 horas de exposição, devido a maior turbidez, a dispersão das partículas ao longo da coluna d'água e coloração das partículas.

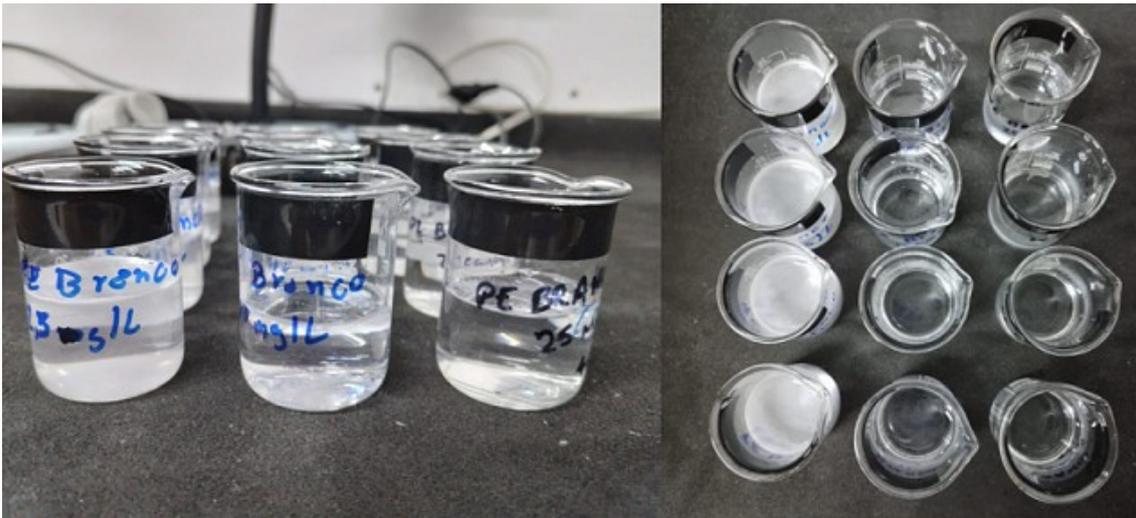


Figura 1: Bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* realizado com PE1.



Figura 2: Bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* realizado com PE2.

No bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* pode-se observar o resultado em percentual de letalidade observada. Esse resultado foi submetido a análise estatística através do teste-*t* para avaliar a diferença do efeito observado de cada amostra em relação ao controle. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Percentual de letalidade do microcrustáceo *Artemia sp*.

Microplástico	Percentual de efeito	<i>p value</i>
Controle	0%	-
PE1 – 2,5 g/L	23%	0,018
PE1 – 100 mg/L	8%	0,215
PE1 – 25 mg/L	8%	0,391
PE2 – 2,5 g/L	5%	-
PE2 – 100 mg/L	0%	-
PE2 – 25 mg/L	0%	-

No bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* os resultados são expressos em concentração de efeito em 50% dos organismos (CE50) com o tempo de exposição de 30 minutos. Não foi observado efeito de toxicidade aguda no ensaio com PE1, já nas amostras contaminadas com PE2 e PE3 apresentaram CE50 de 84 e 79%, respectivamente, conforme observado na Figura 3.

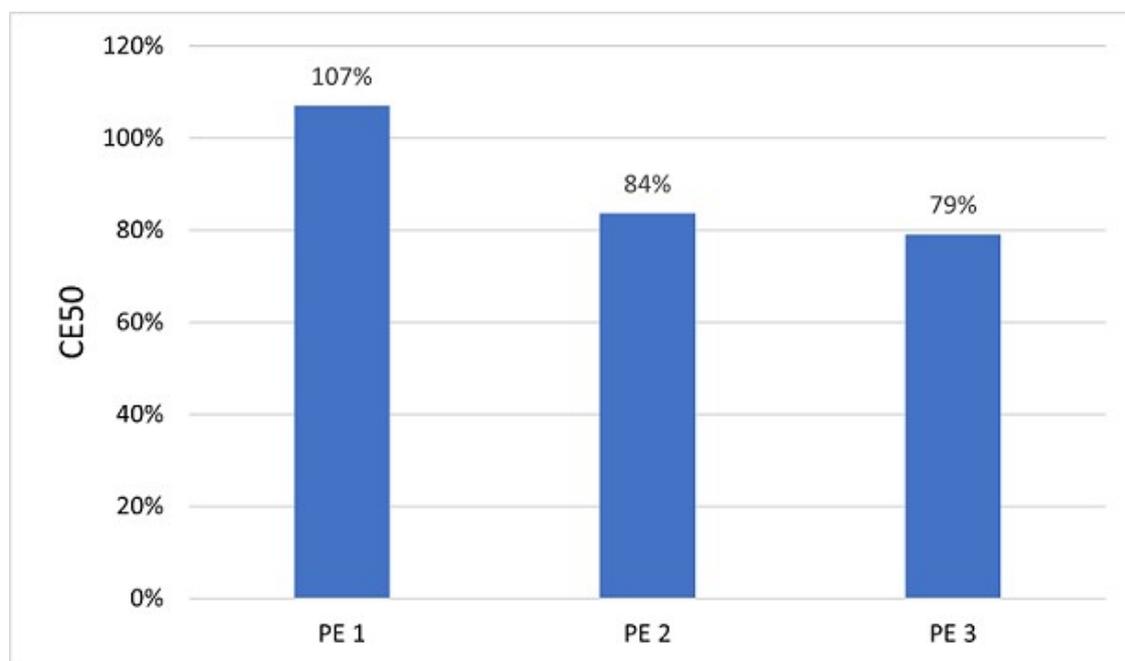


Figura 3: CE50 para amostras contaminadas com 3 tipos diferentes de microplásticos na concentração de 300 mg/L.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Algumas dificuldades foram encontradas ao adaptar as metodologias existentes para amostras contaminadas com microplástico. Algumas particularidades das partículas de microplástico de polietileno devem ser levadas em consideração. Em relação a posição das micropartículas, as partículas de PE2 e PE3 (densidade = 1 g/cm³) tendem a ficar predominantemente flutuando na superfície da coluna d'água, enquanto as partículas de PE1 (densidade = 0,94 g/cm³) ficam dispersas ao longo da coluna d'água; Em relação a aderência das micropartículas aos recipientes-testes e demais vidrarias, as partículas tendem a ficar aderidas nas vidrarias, dessa forma foi observada bastante dificuldade em conseguir garantir a mesma quantidade de partículas em cada replicata; Em relação a concentração de microplásticos, conforme aumenta-se a concentração de microplásticos esse material tem a tendência de formar aglomerados, dificultando assim a homogeneidade das partículas na coluna d'água. Dessa maneira, formas de mitigar esses problemas devem ser utilizadas durante a realização de ensaios ecotoxicológicos com amostras contaminadas com microplásticos.

Com relação aos resultados obtidos nos bioensaios com o microcrustáceo *Artemia sp* observou-se diferença entre o percentual de efeito das amostras contaminadas pelo PE1 e pelo PE2 nas concentrações testadas (Tabela 1). As amostras com PE2 apresentaram efeito somente na concentração mais alta de 2,5 g/L, mesmo assim o efeito apresentado (5%) não foi diferente significativamente do controle. Já as amostras de PE1 apresentaram efeito entre 8% e 23%, sendo 23% o efeito da maior concentração de microplástico. As concentrações de 100 mg/L e 25 mg/L, apesar de apresentarem efeito, não foram diferentes significativamente do controle. O PE1 tem tamanho de 34 a 50 µm, enquanto o PE2 possui partículas três vezes maiores com tamanho de 150 a 180 µm, o que pode ser considerado um dos fatores que influenciaram na diferença dos resultados obtidos.

Em relação aos resultados obtidos no bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* observou-se que as concentrações testadas não apresentaram efeito significativo de toxicidade à bactéria. No entanto, por ser um ensaio que utiliza pequenos volumes amostrais, foi possível perceber visualmente uma grande diferença entre a concentração de microplásticos nas soluções-teste. Esse ensaio não se mostrou uma boa ferramenta para avaliação da toxicidade de amostras contaminadas com microplástico.

CONCLUSÕES

Os resultados indicam que cuidados na adaptação das metodologias existentes para uso com amostras contaminadas com microplásticos devem ser tomadas para que os resultados obtidos sejam uniformes, representativos e reprodutíveis.

O bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri* da maneira que foi realizado não indicou toxicidade aguda nas amostras contaminadas com microplásticos de polietileno, já o bioensaio com o microcrustáceo *Artemia sp* apresentou maior efeito com as amostras de PE1, indicando que a toxicidade das partículas de microplástico aumenta com o aumento da concentração de microplástico e com a diminuição do tamanho das partículas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT NBR 15469, Ecotoxicologia - Coleta, Preservação e Preparo de Amostras.
2. ABNT NBR 15411-3, Ecotoxicologia Aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras aquosas sobre a emissão de bioluminescência de *Vibrio fischeri*, Rio de Janeiro, 2021.
3. Amato-Lourenço et al., 2021; AMATO-LOURENÇO, L. F. Presence of airborne microplastic in human lung tissue. *Journal of Hazardous Materials*, v. 416, 126124, 2021.
4. CARR, S. A.; LIU, J.; TESORO, A. G. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water Research*, v. 91, n. c, p. 174–182, 2016.
5. IVAR DO SUL, J. A. Contaminação ambiental por microplásticos em Fernando de Noronha, Abrolhos e Trindade. 2014. 75 f. 2014.
6. KOSUTH, M.; MASON, S. A.; WATTENBERG, E. V. Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PLoS ONE*, v. 13, n. 4, p. 1–18, 2018.
7. LEAL FILHO, W., SALVIA, A. L., MINHAS, A., PAÇO, A., DIAS-FERREIRA, C. The COVID-19 pandemic and single-use plastic waste in households: A preliminary study. *Science of the Total Environment*, v. 793, 148571. 2021
8. LEE, M., KIM, H. COVID-19 Pandemic and Microplastic Pollution. *Nanomaterials*, v.12, p.851. 2022.
9. PLASTIC EUROPE. Plastic – The facts 2022. October, 2022. Disponível em <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2022/>. Acessado em 28 de janeiro de 2023.
10. RAGUSA, A., SVELATO, A., SANTACROCE, C., CATALANO, P., NOTARSTEFANO, V., CARNEVALLI, O. PAPA, F., RONGIOLETTI, M. C. A., BAIOTTO, F., DRAGHI, S., D'AMORE, E., RINALDO, D. MATTA, M., GIORGINI, E. Plastics: First evidence of microplastics in human placenta. *Environmental International*, v. 146, 106274, 2021.
11. TEUTEN, E. L. et al. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 2027–2045, 2009.
12. YAN, Z., LIU, Y., ZHANG, T., ZHANG, F., REN, H., ZHANG, Y. Analysis of microplastics in human feces reveals a correlation between fecal microplastics and inflammatory bowel disease status. *Environmental Science & Technology*, v. 56, p. 414 – 421.2022.