

1459 - Avaliação do potencial estrogênico e da toxicidade aguda de sedimentos estuarinos do município de Rio das Ostras

Daniele Maia Bila⁽¹⁾

Engenheira Química pela UFRRJ. Mestre e doutora em Engenharia Química pela COPPE/UFRJ. Professor Associado do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DESMA/UERJ).

Louise da Cruz Felix

Engenheira Cartógrafa pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestre e doutoranda em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DEAMB/UERJ).

Allan dos Santos Argolo

Engenheiro Civil pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestre e doutorando em Engenharia Ambiental pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (DEAMB/UERJ).

Giselle Gomes

Bióloga pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestre e doutora em Engenharia Ambiental pela UERJ (DEAMB/UERJ). Pós-doutoranda na Universidade de Aveiro.

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier 524, 5029-F., Maracanã - Rio de Janeiro - Cep: 20550-900 – Brasil. - e-mail: danielebila@eng.uerj.br

RESUMO

Os sedimentos fazem parte do ecossistema aquático sendo considerado resultado de interações bióticas, químicas, físicas e mineralógicas, podem se comportar como repositório final dos contaminantes ou como fontes de contaminação do corpo d'água por dinâmica e suspensão. A frequente presença de contaminantes em sedimentos indica a importância de aprofundar os estudos sobre os processos de transporte, distribuição, interação entre sedimento e contaminantes, e a sua biodisponibilidade. Nesse contexto, conhecer as composição dos sedimentos e como os a sua contaminação pode afetar os organismos é de suma importância para entender a extensão dos impactos ambientais desses contaminantes em matrizes ambientais. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade ambiental do estuário de Rio das Ostras através dos ensaios de atividade estrogênica *Yeast Estrogen Screen* (YES) e do efeito ecotoxicológico agudo com a bactéria *Vibrio fischeri*. Cinco amostras de sedimento foram coletadas em diferentes pontos no estuário do rio Das Ostras e duas amostras de água foram coletadas em uma região seca do estuário e outra na coluna d'água do rio. Para a avaliação ecotoxicológica, foi utilizado o bioensaio padronizado pela ABNT NBR 15411-3 (ABNT, 2021), sendo os resultados de exposição de 30 minutos calculados através do software Microtox OMNI 4.1. O ensaio YES foi realizado segundo metodologia descrita na literatura. O ensaio ecotoxicológico realizado com os elutriados dos sedimentos foi expresso em percentual de efeito observado na exposição de uma única concentração dos pontos. O percentual variou de 9,2% a 34%, indicando que os elutriados analisados não apresentaram toxicidade capaz de reduzir a bioluminescência das bactérias a um nível crítico (>50%). A avaliação de potencial estrogênico das amostras resultou que dentre os pontos de sedimento, os quatro primeiros, dois que estavam na parte interna do manguezal e dois que estavam na região totalmente seca do estuário, não apresentaram atividade estrogênica nas condições do ensaio. Sendo o ponto 5, que fica próximo a embarcações de pesca no leito do rio, o único que apresentou Eq-E2 de 0,04 ng g⁻¹. A avaliação das amostras de água resultou em Eq-E2 de 0,34 ng L⁻¹ para o estuário seco e < LD para o estuário úmido.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminação de sedimentos, contaminantes estrogênicos, ecotoxicologia, estuários.

INTRODUÇÃO

Micropoluentes orgânicos compõem uma classe de contaminantes encontrada no meio ambiente em concentrações-traço sendo capazes de causar efeitos adversos aos organismos e/ou ao ser humano mesmo nessas concentrações (NIETO et al., 2017; KHAN, REHMAN e MALIK, 2020).

Alguns desses micropoluentes são desreguladores endócrinos (DE), isto é, podem atuar nos organismos alterando funções do sistema endócrino, causando efeitos na saúde do organismo e/ou de sua descendência. Dentre os DE, especial atenção é dada às substâncias que atuam na via metabólica do receptor de estrogênio. Portanto, bioensaios são utilizados para quantificar a atividade estrogênica de uma substância, mistura de substâncias ou de amostras ambientais (GOMES et al., 2023).

Essas substâncias podem alcançar os ecossistemas costeiros por diferentes fontes pontuais e difusas, como lançamentos de efluentes domésticos, efluentes industriais, lixiviados de aterros sanitários, deposição úmida a partir da atmosfera e escoamento superficial (GERBERSDORF et al., 2015). Uma das principais fontes é o lançamento de esgoto doméstico *in natura* nos rios, que é um dos grandes problemas ambientais no Brasil (LARA-MARTÍN et al., 2015; FUSI et al., 2016; DAI et al., 2018). No entanto, no Brasil ainda não há regulação quanto às concentrações seguras de micropoluentes em matrizes ambientais, nem há a obrigatoriedade do seu monitoramento.

Os sedimentos fazem parte do ecossistema aquático sendo considerado resultado de interações bióticas, químicas, físicas e mineralógicas, podem se comportar como repositório final dos contaminantes ou como fontes de contaminação do corpo d'água por dinâmica e suspensão (ESTEVES, 1988). Sua caracterização e conhecimento do seu comportamento em corpos hídricos são fundamentais para adequada gestão/uso dos recursos hídricos e suporte para decisão sobre as atividades antrópicas seguras. Em virtude de sua complexa composição e alta mobilidade das partículas entre os compartimentos ambientais, essa matriz é considerada como uma importante fonte secundária de poluição da coluna d'água.

A frequente presença de contaminantes em sedimentos indica a importância de aprofundar os estudos sobre os processos de transporte, distribuição, interação entre sedimento e contaminantes, e a sua biodisponibilidade (SARDIÑA et al., 2019). O estudo do transporte e mobilidade dos micropoluentes nos sedimentos depende do prévio conhecimento das características físico-químicas dos compostos além destas mesmas características dos sedimentos.

Nesse contexto, conhecer as composição dos sedimentos e como os a sua contaminação pode afetar os organismos é de suma importância para entender a extensão dos impactos ambientais desses contaminantes em matrizes ambientais e auxiliar na construção de novas legislações e normas para melhorar a qualidade dos ambientes aquáticos. Para tal, os ensaios ecotoxicológicos são usados de modo a realizar um diagnóstico da qualidade ambiental e do controle da poluição.

Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade ambiental do estuário de Rio das Ostras através dos ensaios de atividade estrogênica *Yeast Estrogen Screen* (YES) e do efeito ecotoxicológico agudo com a bactéria *Vibrio fischeri*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cinco amostras de sedimento foram coletadas em diferentes pontos no estuário do rio Das Ostras e duas amostras de água foram coletadas em uma região seca do estuário e outra na coluna d'água do rio (Figura 1). Essa é uma região de importante impacto socioeconômico da região, visto que sofre influência das atividades pesqueiras, desenvolvidas no mangue e no próprio rio, e turísticas, devido às praias e da reserva ecológica Monumento dos Costões Rochosos. A ocupação urbana observada entre o rio e a região de mangue é uma comunidade pesqueira de grande relevância para o município.



Figura 1: Mapa do estuário do rio Das Ostras com os pontos de coleta, os polígonos representando a zona de mangue, a zona de influência do rio e a área de reserva ecológica.

Para a avaliação ecotoxicológica, foi utilizado o bioensaio com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*, fazendo uso do equipamento Microtox M500 para a realização do ensaio segundo a metodologia descrita na ABNT NBR 15411-3 (ABNT, 2021). O preparo das amostras de sedimento foi realizado conforme ABNT NBR 15469 (ABNT, 2021).

A partir das amostras de sedimento, foram preparados elutriatos na proporção de 1:4 com o diluente do ensaio. Todo o ensaio foi realizado em duplicata. Após o período de exposição, a emissão de bioluminescência de cada ponto foi medida e os resultados foram calculados a partir das respostas da diminuição da emissão de luz das bactérias em relação ao controle nos tempos 0 e 30 minutos através do software Microtox OMNI 4.1.

O preparo de amostras e a avaliação da atividade estrogênica foram realizados de acordo com Gomes et al. (2023). Amostras de água (1 L) foram filtradas em membranas de fibra de vidro (0,70 μm) e de nitrocelulose (0,45 μm), submetidas a extração em fase sólida (EFS) com cartucho Strata-X (Phenomenex). Seguiu-se a eluição com acetona, secagem em fluxo de N_2 e reconstituição com 2 mL de etanol para o ensaio YES. Amostras de sedimento (10 g) foram secas e submetidas a 3 ciclos de 10 min de extração com 10 mL de metanol assistida por ultrassom. Ao final de cada ciclo, deu-se a centrifugação para coleta dos sobrenadantes, e os extratos foram avolumados a 250 mL com água ultrapura. Extratos diluídos foram submetidos a EFS com um cartucho Strata SAX acoplado ao cartucho Strata-X, para remoção de citotoxicidade.

O ensaio YES foi realizado em microplacas de 96 poços com diluição seriada de extratos das amostras e do 17β -estradiol (E2) como controle positivo, na faixa de 2724 a 1,33 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$, e o etanol foi utilizado como controle negativo. Após incubação de 72 h a 30° C, foram medidas as absorvâncias a 575 nm e 620 nm para avaliar cor e turbidez e proceder os cálculos de absorvância corrigida. Interpolando os dados da curva da amostra com a curva dose-resposta do E2, foram obtidos os resultados de equivalente estradiol (Eq-E2) em ng g^{-1} e ng L^{-1} para amostras de sedimento e de água, respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de sedimento foram coletadas em período de maré baixa, onde a comunicação do rio com o mar fica interrompida com grandes porções de sedimento aparente. Os pontos de coleta estavam distribuídos em porção interna do manguezal (2) que compõem o estuário, e porção próxima ao rio (3), totalizando cinco pontos (Figura 1). Sob as mesmas condições do dia, foi realizada coleta de dois pontos de água, uma na coluna d'água do rio principal e uma em um fragmento de água que estava na parte seca do estuário.

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos de atividade estrogênica e de ecotoxicidade para as amostras analisadas. A avaliação de potencial estrogênico das amostras resultou que dentre os pontos de sedimento, os quatro primeiros, dois que estavam na parte interna do manguezal e dois que estavam na região totalmente seca do estuário, não apresentaram atividade estrogênica nas condições do ensaio. Sendo o ponto 5, que fica próximo a embarcações de pesca no leito do rio, o único que apresentou Eq-E2 de 0,04 ng g⁻¹. A avaliação das amostras de água resultou em Eq-E2 de 0,34 ng L⁻¹ para o estuário seco e < LD para o estuário úmido.

Tabela 2: Resultados de atividade estrogênica em Eq-E2 e de toxicidade em percentual de inibição observado para as amostras de sedimento e água do estuário do rio das Ostras

Amostra de Sedimento	Eq-E2 (ng g ⁻¹)	% Inibição
S-1	< LD	9,20
S-2	< LD	11,45
S-3	< LD	21,35
S-4	< LD	34,00
S-5	0,04	23,00
Amostra de Água	Eq-E2 (ng L ⁻¹)	% Inibição
A-#	< LD	NR
A-#	0,34	NR

LD: Limite de detecção.

NR: Não realizado.

O ensaio ecotoxicológico realizado com os elutriados dos sedimentos foi expresso em percentual de efeito observado na exposição de uma única concentração dos pontos. O percentual variou de 9,2% a 34%, indicando que os elutriados analisados não apresentaram toxicidade capaz de reduzir a bioluminescência das bactérias a um nível crítico (>50%).

Um dos desafios para o avanço das pesquisas de contaminação de sedimentos, principalmente com micropoluentes, é o estabelecimento de metodologias analíticas de extração, identificação e quantificação dos analitos nessa matriz (BIAŁK-BIELIŃSKA *et al.*, 2016). Esta matriz ambiental apresenta uma grande variação na composição granulométrica, mineralógica, teor de carbono orgânico e outras substâncias interferentes e por isso é considerada de alta complexidade para avaliação de impacto.

O estudo das características dos sedimentos e a correlação destes fatores com a presença de micropoluentes e toxicidade é necessária, visto que muitas das composições afetam diretamente a adsorção destes e outros contaminantes nesta matriz. Estudos de partição e sorção de micropoluentes são fundamentais para a compreensão de seu comportamento ambiental, uma vez que a partição entre as fases aquosa e particulada está diretamente relacionada ao destino e aos mecanismos de transporte e dispersão envolvidos em sua biodegradabilidade e biodisponibilidade.

No que tange o preparo de sedimentos para bioensaios é importante refletir sobre o uso de diluentes salinos uma vez que diferentes salinidades podem interferir nos compostos que se tornam biodisponíveis na fase aquosa. Outra questão a ser melhor avaliada é a questão da proporção sedimento/água utilizada em casos de diferentes características granulométricas do sedimento. Parâmetros como tempo de preparo, salinidade, pH, granulometria e teor de orgânicos são fundamentais para uma correta seleção de ensaios e métodos de quantificação, sendo assim necessário realizar mais ensaios para que a área de estudo esteja corretamente caracterizada quanto a indícios de poluição por microcontaminantes.

Desta forma, outras metodologias de preparo de sedimentos devem ser utilizadas, testadas e validadas para que resultados representativos da dinâmica ambiental presente nos ambientes aquáticos, interação da matriz sedimento e água, sejam publicados e contribuam para possíveis legislações.

CONCLUSÕES

O bioensaio in vivo com a bactéria bioluminescente *Vibrio fischeri*, segundo a metodologia adotada, não indicou toxicidade aguda nas amostras preparadas em razão de 1:4 com diluente salino. Como a salinidade interfere diretamente na dessorção de contaminantes, seria ideal avaliar a correlação deste parâmetro com dados ecotoxicológicos. Sendo assim é necessário elaborar mais estudos em relação às águas coletadas e aos sedimentos, avaliando a questão da biodisponibilidade e interação entre as matrizes.

O bioensaio in vitro com avaliação do potencial estrogênico (YES) das amostras pode ter apresentado uma limitação na quantificação dos compostos estrogênio por ter havido uma disparidade nas respostas obtidas. Apenas em um ponto de água foi possível quantificar Eq-E2, sendo que o ponto de sedimento correspondente a este local não apresentou resposta para este ensaio. Já o ponto de sedimento que apresentou resposta positiva não foi possível correlacionar com os dados de água superficial, pois a coleta foi prejudicada neste ponto. Desta forma, dados granulométricos e de teor de orgânicos precisam ser gerados para estes pontos a fim de entender a variação e dispersão da contaminação de sedimentos por micropoluentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABNT NBR 15469. Ecotoxicologia – Coleta, Preservação e Preparo de Amostras. Rio de Janeiro, 2021
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. BIAŁK-BIELIŃSKA, A.; KUMIRSKA, J.; BORECKA, M.; et al. Selected analytical challenges in the determination of pharmaceuticals in drinking/marine waters and soil/sediment samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 121, p. 271–296, 2016
4. DAI, X.; WANG, C.; LAM, J.C.W.; et al. Accumulation of quaternary ammonium compounds as emerging contaminants in sediments collected from the Pearl River Estuary, China and Tokyo Bay, Japan. *Marine Pollution Bulletin*, v. 136, n. September, p. 276–281, 2018
5. ESTEVES, F. A. 1988. Fundamentos da Limnologia. Interciência/FINEP, Rio de Janeiro
6. FUSI, M.; BEONE, G. M.; SUCIU, N. A.; et al. Ecological status and sources of anthropogenic contaminants in mangroves of the Wouri River Estuary (Cameroon). *Marine Pollution Bulletin*, v. 109, n. 2, p. 723–733, 2016
7. GERBERSDORF, S. U.; CIMATORIBUS, C.; CLASS, H.; et al. Anthropogenic Trace Compounds (ATCs) in aquatic habitats - Research needs on sources, fate, detection and toxicity to ensure timely elimination strategies and risk management. *Environment International*, v. 79, p. 85–105, 2015
8. GOMES, G.; ARGOLO, A.S.; FELIX, L.C.; BILA, D.M. Interferences in the yeast estrogen screen (YES) assay for evaluation of estrogenicity in environmental samples, chemical mixtures, and individual substances. *Toxicology in vitro*, v. 38, April 2023, p. 105551, 2023
9. KHAN, H.K.; REHMAN, M.Y.A.; MALIK, R.N. Fate and toxicity of pharmaceuticals in water environment: An insight on their occurrence in South Asia. *Journal of Environmental Management*, v. 271, n. March, p. 111030, 2020
10. LARA-MARTÍN, P.A.; RENFRO, A.A.; COCHRAN, J.K.; BROWNAWEL, B.J. Geochronologies of pharmaceuticals in a sewage-impacted estuarine urban setting (Jamaica Bay, New York). *Environmental Science and Technology*, v. 49, n. 10, p. 5948–5955, 2015

11. NIETO, E.; CORADA-FERNÁNEDZ, C.; HAMPEL, M.; et al. Effects of exposure to pharmaceuticals (diclofenac and carbamazepine) spiked sediments in the midge, *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *Science of the Total Environment*, v. 609, p. 715–723, 2017
12. SARDIÑA, P.; LEAHY, P.; METZELING, L.; et al. Emerging and legacy contaminants across land-use gradients and the risk to aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment*, v. 695, p. 133842, 2019