



Empreendimento 2011-AT-584

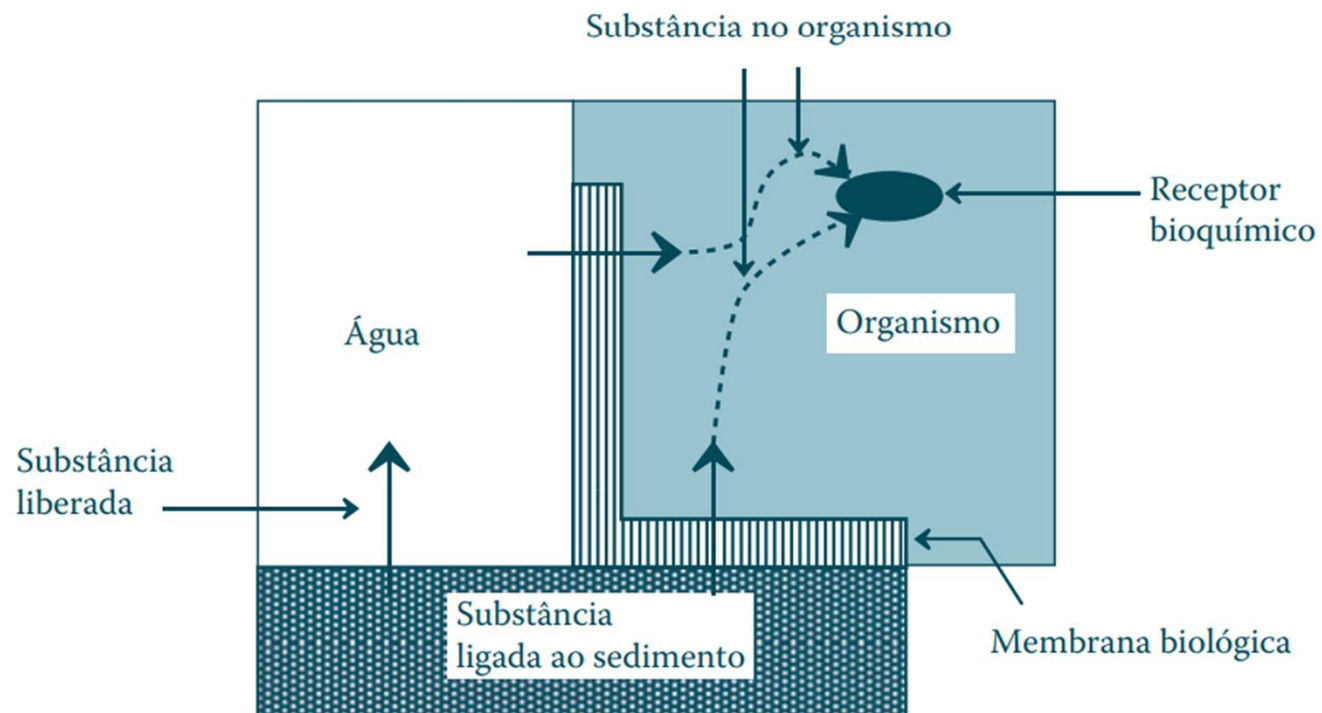
**Toxicidade e Genotoxicidade de Água intersticial
proveniente de sedimento na Unidade de
Gerenciamento de Recursos Hídricos do Alto Tietê
(UGRHI 6)**

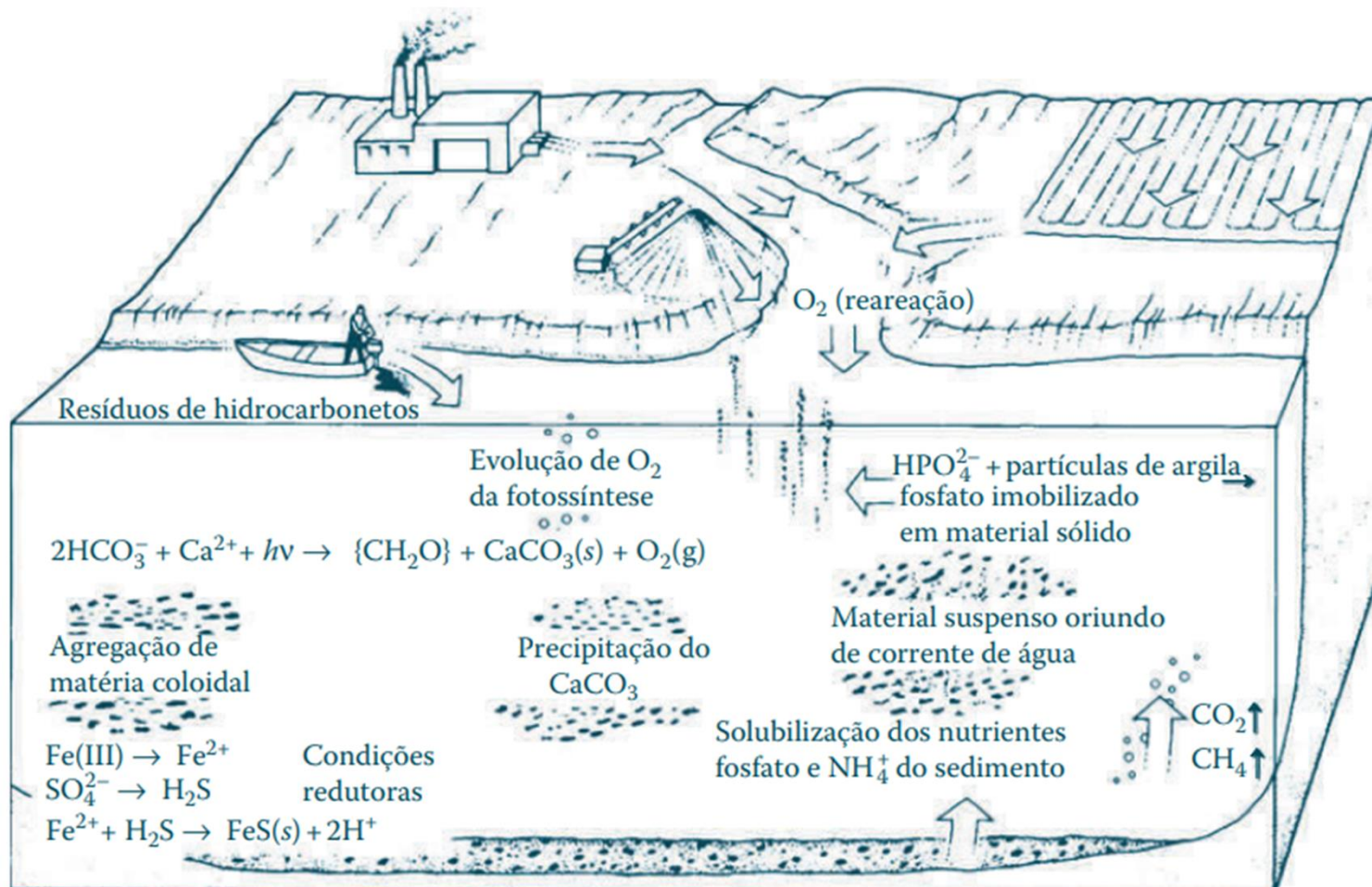
Dr. Gilson Alves Quinágua



Validar métodos para extração, caracterização química, testes de toxicidade e genotoxicidade de água intersticial proveniente de sedimentos, e caracterizar a **água intersticial de sedimentos** da UGRHI 6 quanto à toxicidade e genotoxicidade.

Transferência de contaminantes da água intersticial no sedimento a organismos





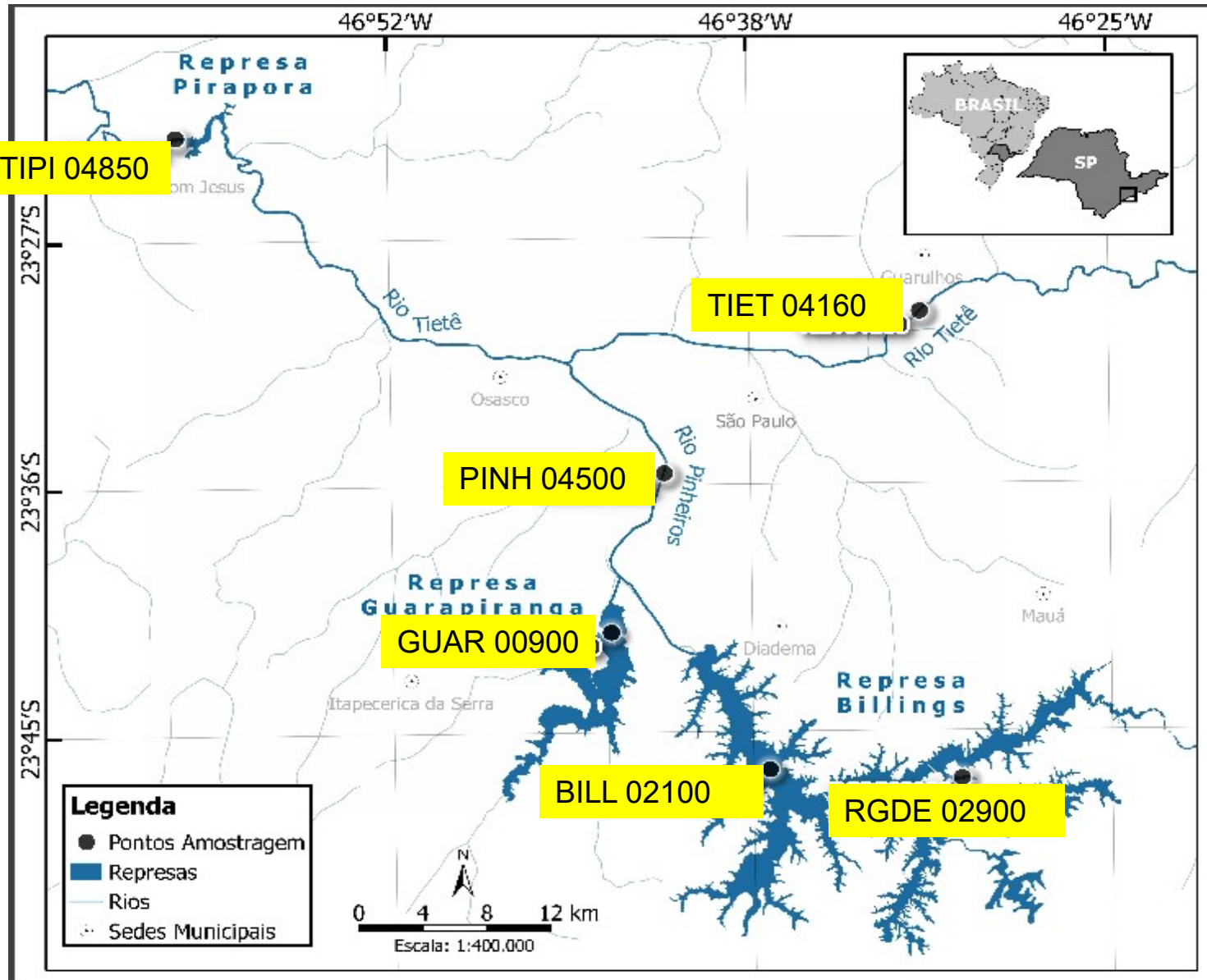


Descrição dos pontos de coleta

Ponto	Descrição	Long. W	Lat. S
BILL 02100	No meio do corpo central do Reservatório Billings, na direção do braço do Bororé.	46 38 49	23 47 11
GUAR 00900	No corpo central do Reservatório do Guarapiranga, a 2 km da barragem. Jusante dos braços dos rios M'Boi – Mirim, Parelheiros, Embu-Guaçu e Itupu.	46 43 35	23 41 22
RGDE 02900	No corpo central do Reservatório do Rio Grande, a 2 km da barragem, em frente ao clube do Banespa.	46 30 42	23 46 40
TIPI 04850	Reservatório de Pirapora, aproximadamente 0,5 km da comporta do Reservatório.	46 59 21	23 23 13
TIET 04160*	Rio Tietê, a 800 metros a montante da Barragem da Penha, embaixo da rede elétrica.	46 32 08	23 29 45
PINH 04500	Rio Pinheiros, embaixo da Ponte Ari Torres (Avenida dos Bandeirantes).	46 41 34	23 35 35

* não foi realizada coleta em 2013 devido a problemas técnicos

Área de Estudo



Coleta e preparo de sedimento



Após a homogeneização, a amostra de sedimento foi centrifugada a, no mínimo, 2000 x g durante 30 minutos.





Efeito Coquetel

O efeito coquetel ocorre de 3 formas:

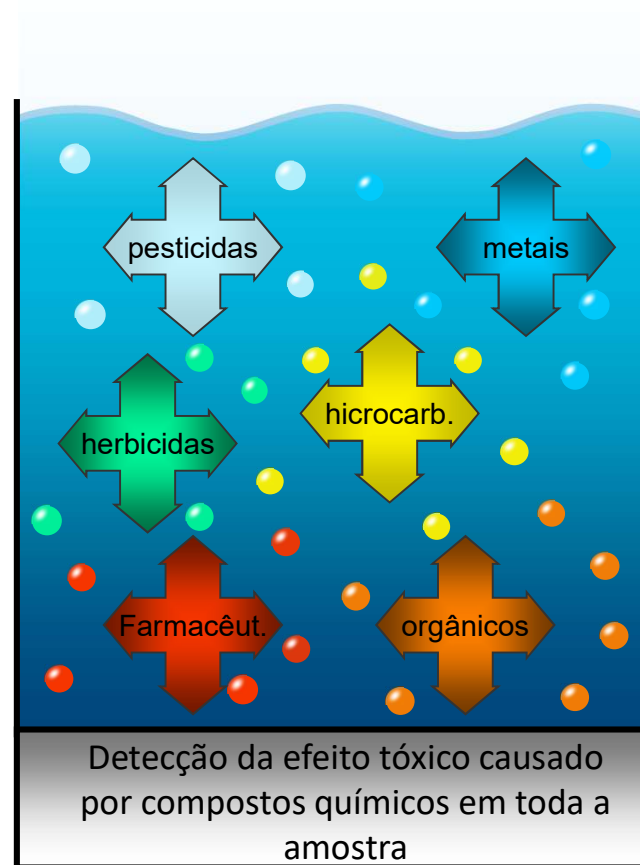
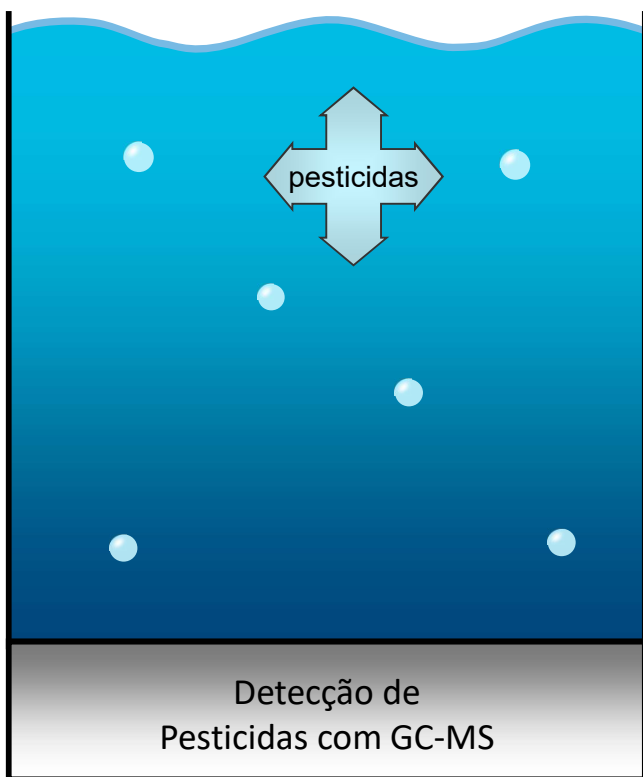
Efeito aditivo: efeito final é igual à soma dos efeitos de cada um dos compostos químicos envolvidos;

Efeito antagônico: o efeito de um composto químico é diminuído, inativado ou eliminado quando se combina com outro composto;

Efeito sinérgico: o efeito de um composto químico é aumentado quando em combinação com outro composto.

Amostras Ambientais Aquosas = Amostras Complexas

- Se você procura por compostos individualmente, vai perder muita informação!
- Você não consegue quantificar todos os compostos em uma amostra de água!!



Resposta em um GC-MS é limitada ao número de compostos que são conhecidos em banco de dados e permite este tipo de análise (e.g. compostos que são suficientemente voláteis)

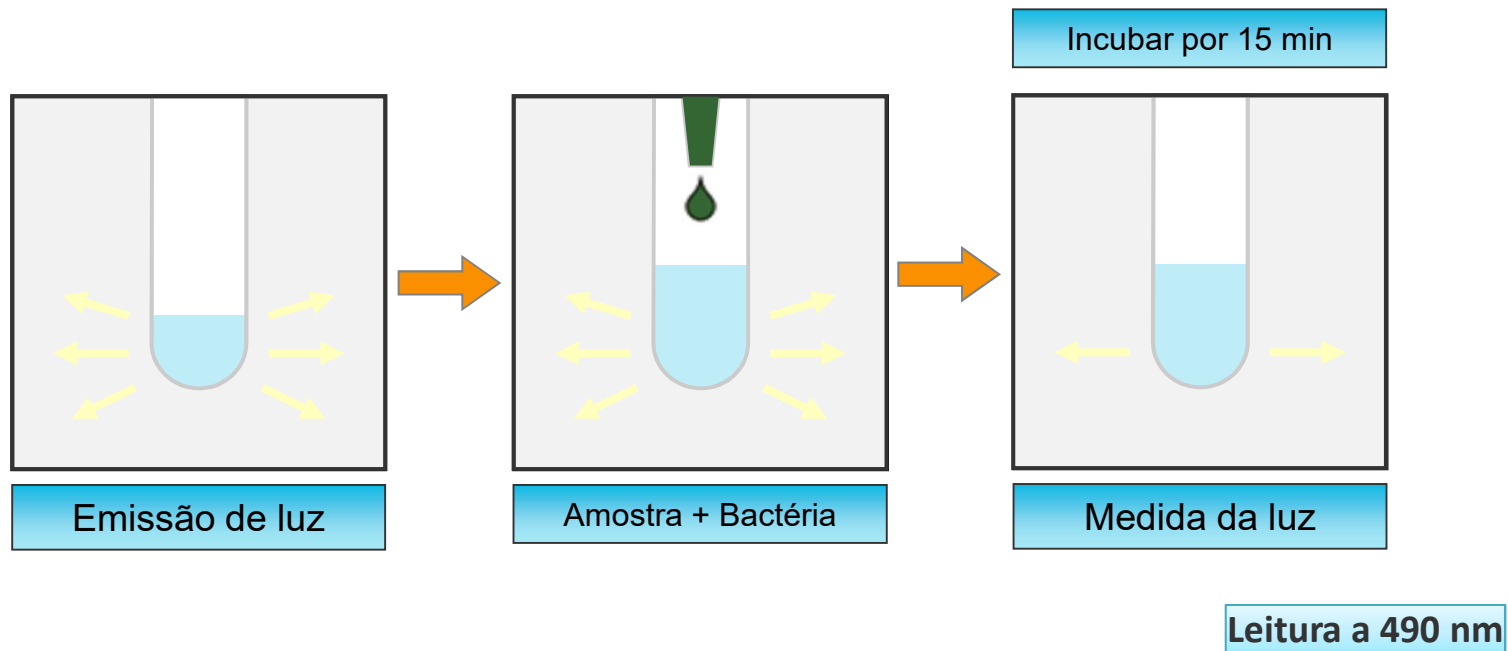


Toxicidade aguda com Bactéria Luminescente *Vibrio fischeri*

Sistema Microtox[®]

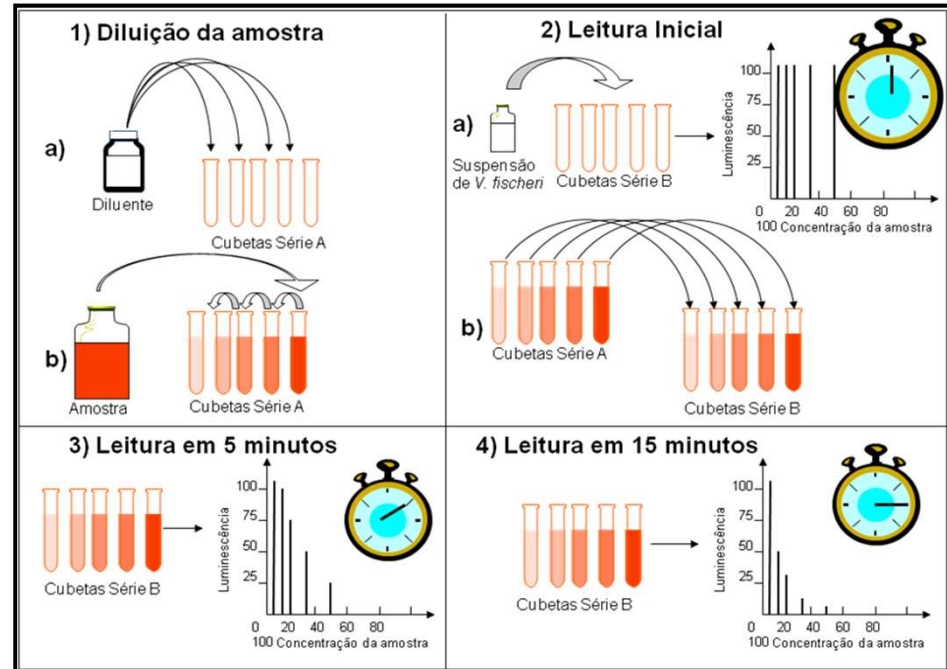


Como Funciona o Teste Microtox com a Bactéria Luminescente *Vibrio fischeri*?



**Quanto maior a diminuição da luz,
maior toxicidade da amostra !!!**

Teste de toxicidade aguda com *Vibrio fischeri*



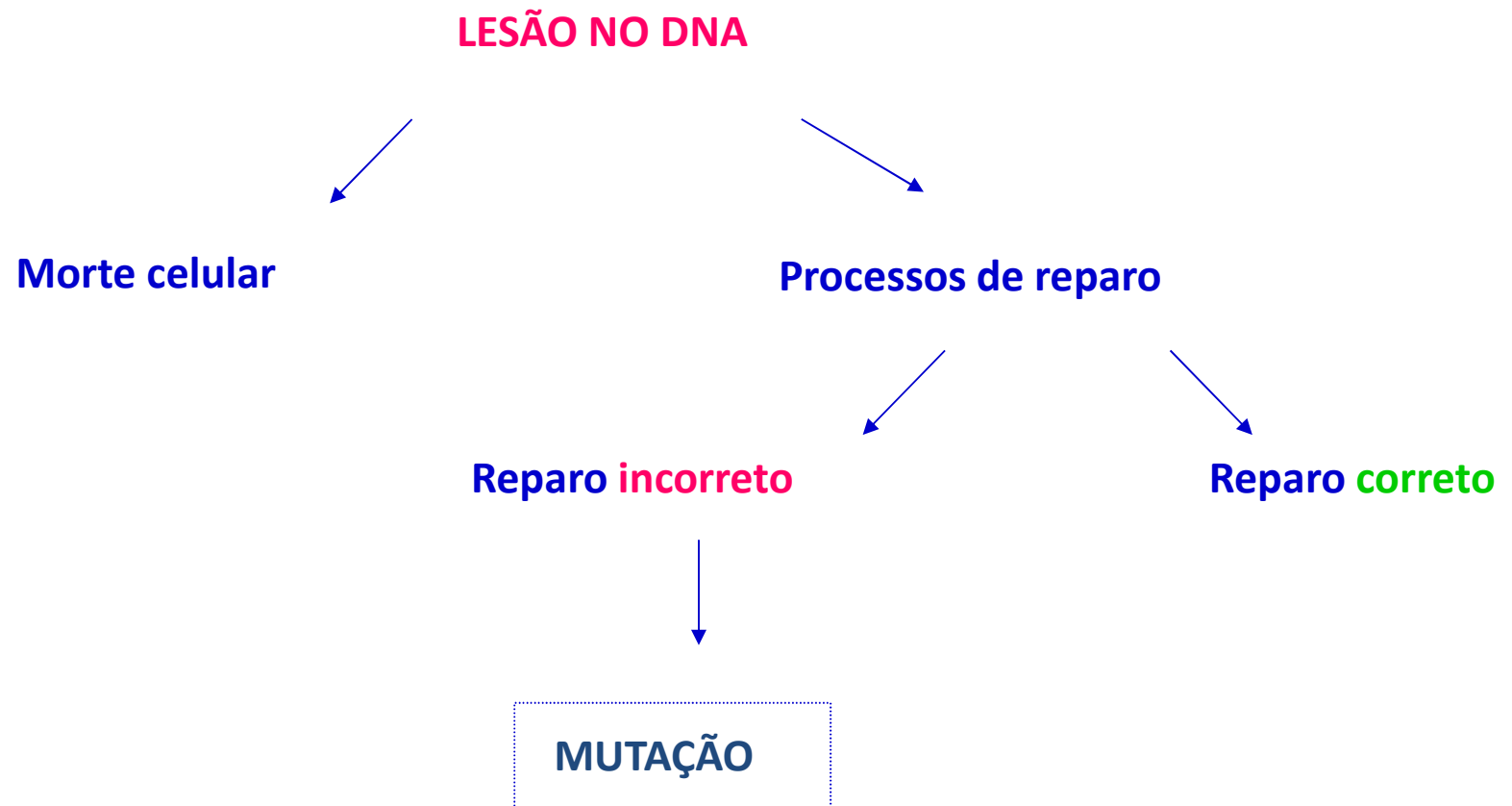


Classificação de toxicidade aguda com *V. fischeri* (Sistema Microtox[®])

CE20: Concentração da amostra que causa 20% de inibição

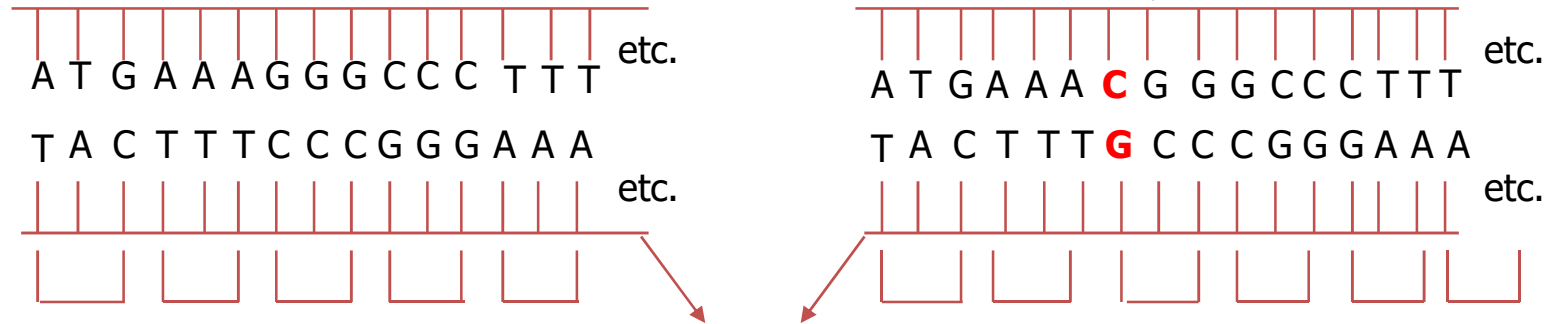


O que é mutação?

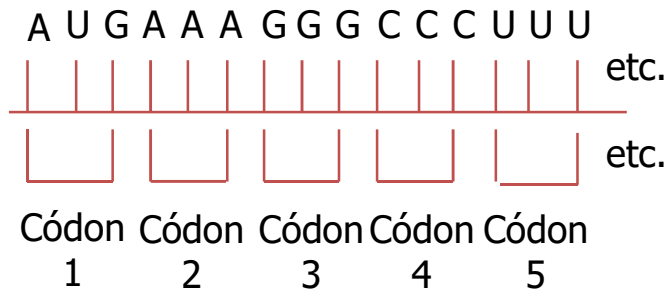


Exemplo de mutação

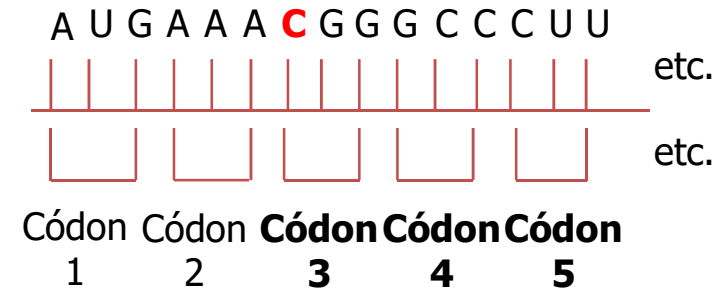
Adição do par de base CG 



mRNA



Filamento transcrito

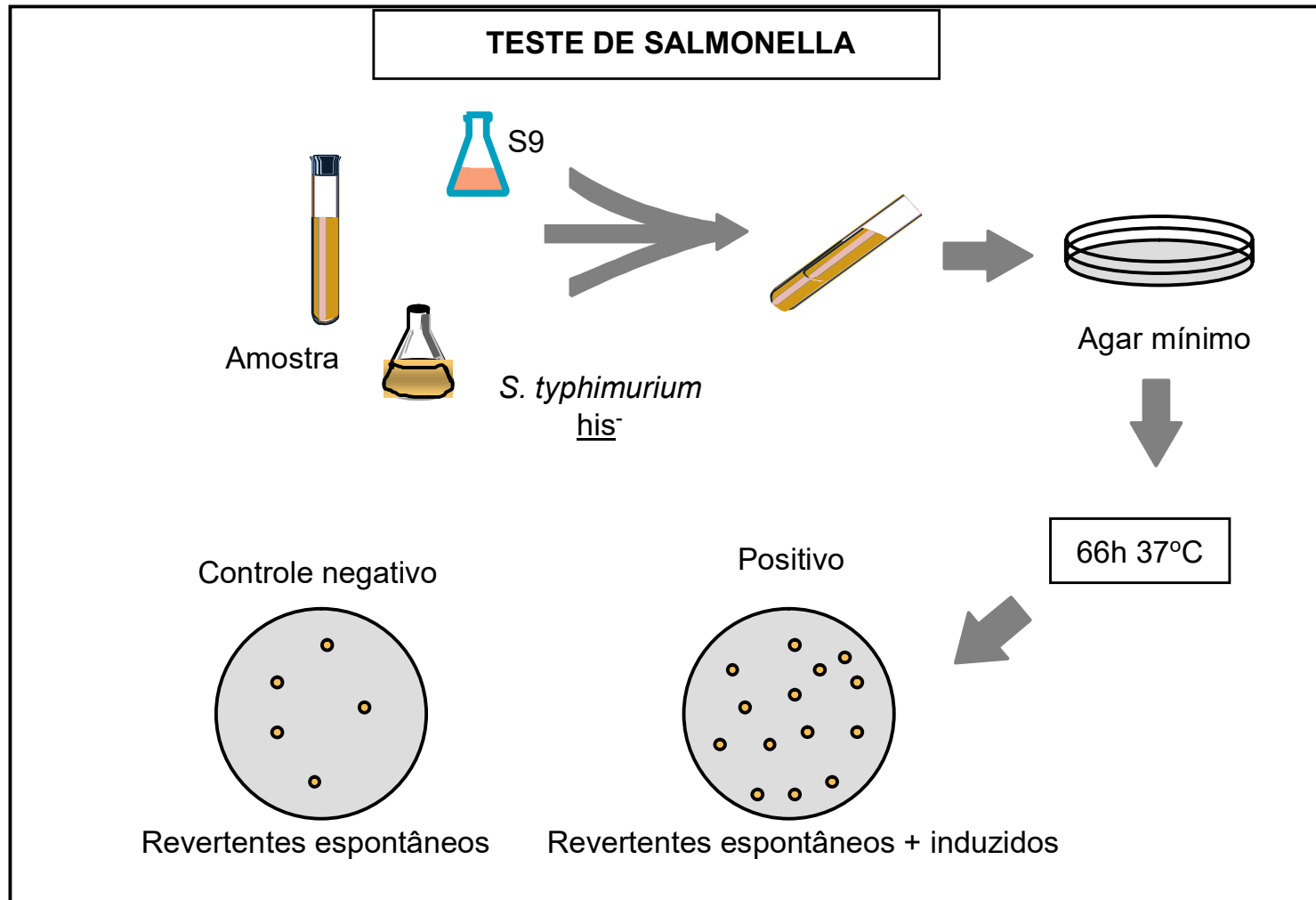


Polipeptídeo:

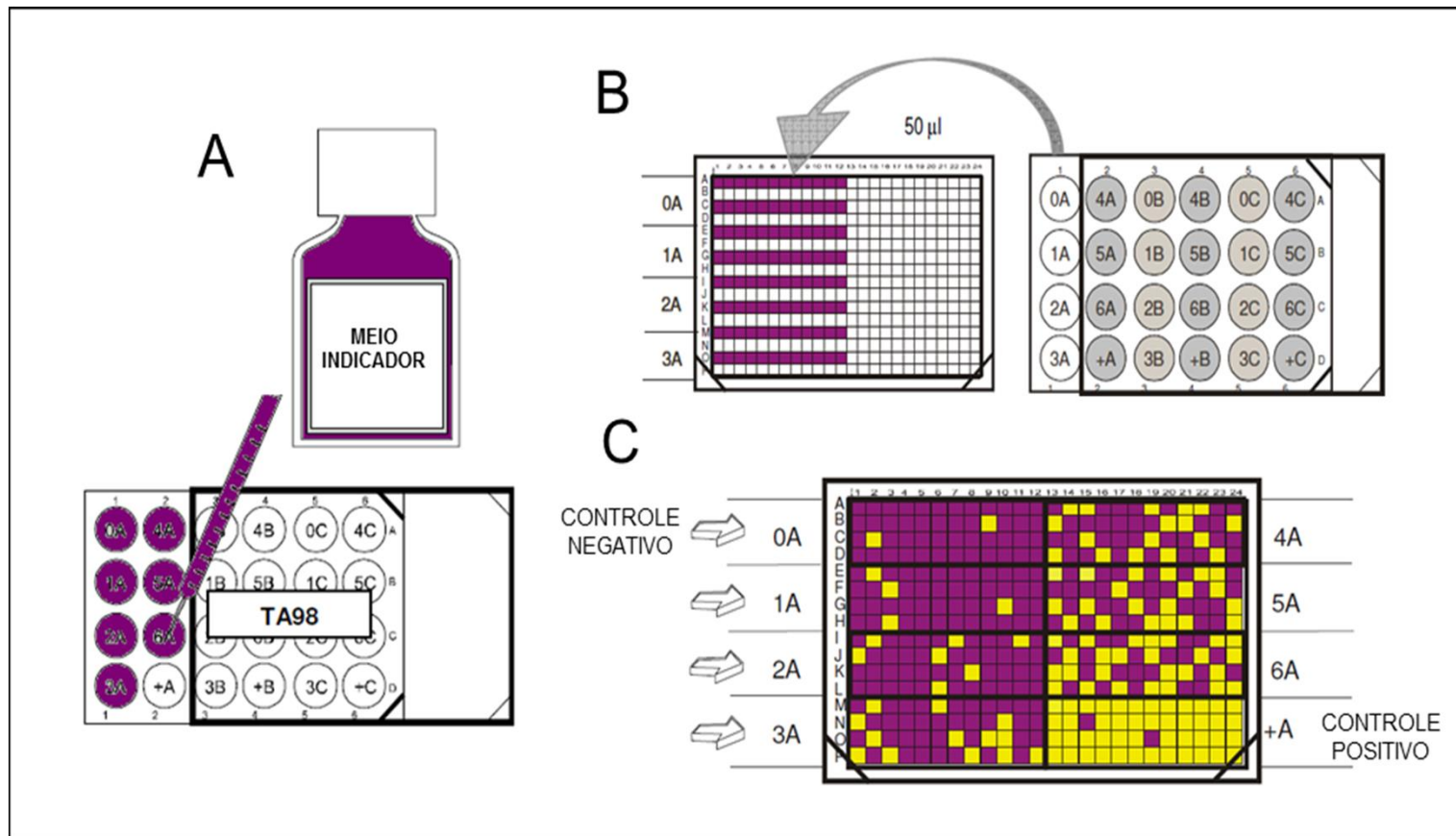
Met - Lys - Gly - Pro - Phe - etc

Met - Lys - Arg - Ala - Leu - etc

Teste de Salmonella (Teste de Ames)



Teste de Ames – Kit MPF™





Determinação de Metais Totais por ICP OES

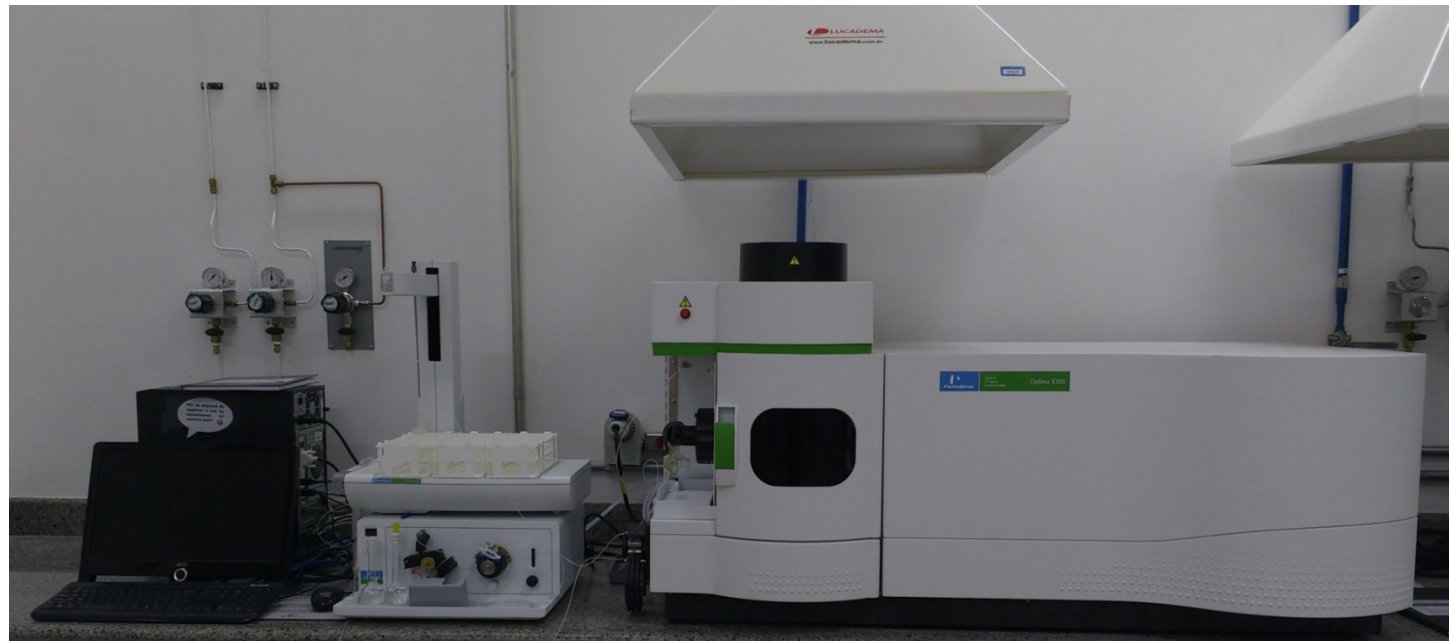
☐ Metais totais:

arsênio, cádmio, chumbo, cobre, cromo, níquel, zinco

Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES)

☐ Referência:

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 3120B





Determinação de Mercúrio por CV-AAS

❑ Mercúrio:

espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio

❑ Referência:

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 3112





Determinação de Orgânicos Semi-voláteis por CG/MS

❑ **Orgânicos Semi-voláteis:**
Cromatografia gasosa com
espectrometria de massas
(CG/MS)

❑ **Referência:**
US EPA 8270





Resultados



Resultados do teste de toxicidade aguda com *V. fischeri*

Ponto de coleta	V. fischeri			
	2012		2013	
	CE20	Classificação	CE20	Classificação
GUAR 00900	6,55 (5,31-8,08)	Muito tóxica	19,5 (18,0 – 21,1)	Muito tóxica
RGDE02900	11,2 (9,66 – 12,9)	Muito tóxica	14,2 (13,4 – 15,2)	Muito tóxica
TIPI04850	3,08 (2,94 – 3,23)	Muito tóxica	49,5 (37,2 -66,0)	Tóxica
BILL02100	20,5 (15,9 – 26,5)	Muito tóxica	15,9 (11,5 – 21,9)	Muito tóxica
TIET 04160	11,4 (9,33 -14,0)	Muito tóxica	NR	-
PINH04500	28,4 (18,3 – 44,2)	Tóxica	54,4 (47,3 – 62,6)	Moderadamente tóxica

NR = não realizada



Resultados do teste de toxicidade aguda com *V. fischeri*

Apesar de os testes de toxicidade aguda para *Vibrio fischeri* em água intersticial terem apresentado toxicidade, os resultados da análise química, tanto para metais como para orgânicos semi-voláteis nessa matriz, apresentaram níveis baixos (Tabelas 2 e 3), sendo que a maioria apresentou concentrações abaixo do limite de quantificação (LQ).

A toxicidade aguda observada no ensaio com *Vibrio fischeri* no nosso estudo foi provocada pela presença de compostos tóxicos na água intersticial, mas é difícil discriminar uma relação direta com toxicantes específicos.



Resultados dos ensaios de genotoxicidade

Não foi detectada atividade mutagênica em nenhuma amostra de água intersticial dos sedimentos coletados, em quaisquer das metodologias utilizadas.

Em outras amostras do monitoramento (que não foram parte deste projeto), os pontos BILL 02100 e GUAR 00900 apresentaram mutagenicidade associada ao material particulado. Esses resultados sugerem que os compostos mutagênicos presentes nestes locais não são mobilizados do sedimento para a água intersticial.



Resultados da determinação de metais

Metais	Concentração (mg/L)											
	GUAR 00900		RGDE02900		TIPI04850		BILL02100		TIET 04160		PINH04500	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
As	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	NR	<LQ	NR	<LQ	NR	NR	NR	<LQ
Cd	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	NR	<LQ	<LQ
Pb	0,03	0,05	0,02	PI	0,01	NR	<LQ	<LQ	0,05	NR	<LQ	NR
Cu	0,52	0,56	0,5	0,64	0,04	0,05	0,01	<LQ	0,04	NR	0,02	0,03
Cr	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,02	0,03	<LQ	<LQ	0,05	NR	<LQ	<LQ
Hg	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	NR	<LQ	<LQ
Ni	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,06	0,07	<LQ	<LQ	<LQ	NR	<LQ	0,02
Zn	0,04	0,03	0,03	<LQ	0,16	0,29	0,02	<LQ	0,26	NR	0,07	0,03

NR = não realizado; PI = presença de interferentes



Resultados da determinação de orgânicos semi-voláteis

Abaixo do LQ:

1,2,4-Triclorobenzeno, 1,2-Diclorobenzeno, 1,3-Diclorobenzeno, 1,4-Diclorobenzeno, 2,4,6-Triclorofenol, 2,4-Diclorofenol, 2,4-Dimetilfenol, 2,4-Dinitrofenol, 2,4-Dinitrotolueno, 2,6-Dinitrotolueno, 2-Clorofenol, 2-Cloronaftaleno, 2-metil-4,6-dinitrofenol, 2-Nitrofenol, 4-Bromofenil fenil éter, 4-Cloro-3-metil fenol, 4-Clorofenil fenil éter, 4-Nitrofenol, Acenafteno, Acenaftaleno, Antraceno, Azobenzeno, Benzilbutil ftalato, Benzo(a)antraceno, Benzo(a)pireno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(ghi)perileno, Benzo(k)fluoranteno, Bis(2-cloroetil) éter, Bis (cloroetoxi) metano, Bis(2-cloroisopropil) éter, Carbazole, Criseno, Di-n-octil ftalato, dibenzo(a,h)antraceno, Dimetil ftalato, Fenantreno, Fluoranteno, Fluoreno, Hexaclorobenzeno, Hexaclorobutadieno, Hexacloroetano, Hexaclorociclopentadieno, Indeno(1,2,3-cd)pireno, Isoforone, N-nitroso-n-propilamina, Naftaleno, Nitrobenzeno, Pentaclorofenol, Pireno



Resultados da determinação de orgânicos semi-voláteis

Varredura semi-voláteis	Concentração (µg/L)											
	GUAR 00900		RGDE02900		TIPI04850		BILL02100		TIET 04160		PINH04500	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
Bis(2-etilexil) ftalato	<LQ	<LQ	<LQ	PI	36,9	PI	<LQ	PI	69,3	NR	33,6	18,4
Dibutil ftalato	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	92,6	<LQ	<LQ	NR	<LQ	<LQ
Dietil ftalato	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	91,5	<LQ	<LQ	NR	<LQ	7,23
Fenol	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,28	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	NR	<LQ	<LQ

NR = não realizado; PI = presença de interferentes



Resultados das análises químicas

- **Metais:**

A maioria das amostras tiveram resultados abaixo dos LQs, exceto Pb, Cu e Zn. Ao compararmos as concentrações obtidas desses metais com os padrões para enquadramento de corpos hídricos Classe Especial e 2 da Resolução CONAMA 357, como são os dos pontos GUAR00900, BILL02100 e RGDE02900, essas ultrapassam os padrões, principalmente para Pb (0,01 mg/L) e Cu (0,009 mg/L).

- **Orgânicos:**

Presença de ftalatos em baixas concentrações.

Aparentemente os resultados obtidos nas determinações químicas não explicam totalmente a toxicidade observada no ensaio com *Vibrio fischeri*.



Conclusão e Recomendações

Produto do Projeto FEHIDRO 2011-AT-584

- ❑ O monitoramento químico clássico fornece resultados bem detalhados, mas é incompleto por não fornecer informação sobre o impacto da mistura de poluentes e sua biodisponibilidade.
- ❑ Os testes de toxicidade em água intersticial complementam a avaliação da fase sólida dos sedimentos.
- ❑ O presente estudo mostrou a viabilidade de se utilizar a água intersticial para os bioensaios, no entanto, devido à influência da sazonalidade na qualidade dos recursos hídricos e o pequeno número de amostras, apenas onze, não foi possível correlacionar os resultados de toxicidade com poluentes específicos. Provavelmente a toxicidade foi devida a compostos não analisados.



Equipamentos adquiridos no projeto



**Item 1.1 - Analisador de toxicidade Microtox 500 –
Patrimônio CETESB ME-10992**



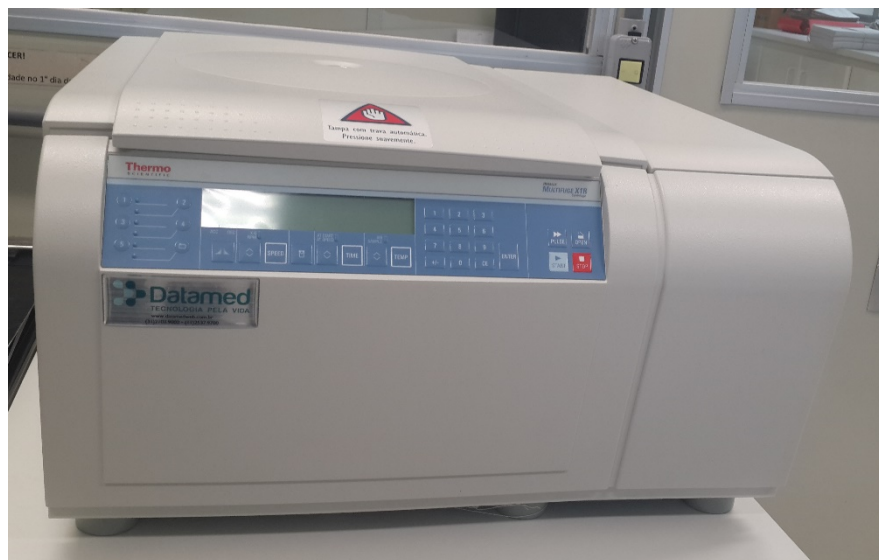
**Item 1.2 - Freezer e refrigerador combinados –
Patrimônios CETESB ME-11200 e ME-11218**



**Item 1.3 – Concentrador de Amostras –
Patrimônio CETESB ME-11210**



**Item 1.4.1 e 2 – Refrigerador com freezer –
Patrimônio CETESB ME- 11173 e ME - 11154**



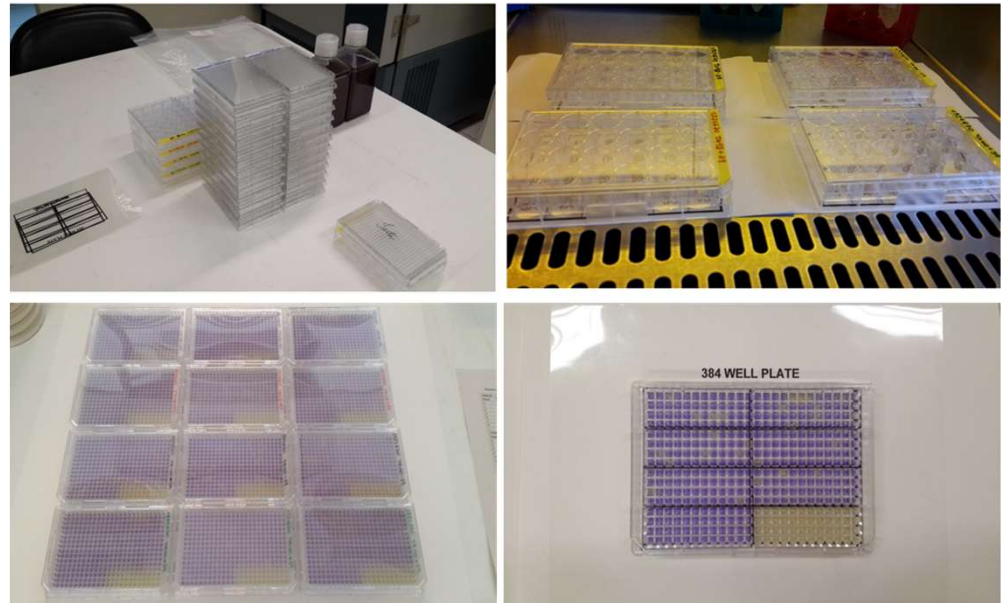
**Item 1.5 – Centrífuga refrigerada de bancada –
Patrimônio CETESB ME- 11100**



**Item 1.6.1 e 2 – Microscópio – Patrimônio CETESB
ME- 11687 e ME - 11686**



**Item 1.7 – Esterilizador horizontal –
Patrimônio CETESB ME – 10976**



**Itens 2.1 e 2.2 – Kits AQUA e MPF para teste de
mutagenicidade – Não é patrimoniado**



Equipe Técnica da CETESB

Encarregados do Projeto

Dra. Rúbia Kuno - Gerente da Divisão de Toxicologia Humana e Saúde Ambiental da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB.

Dr. Gilson Alves Quinágua – Gerente do Setor de Análises Toxicológicas da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo – CETESB.

