



**CAPTAR**  
ciência e ambiente para todos

volume 3 • número 1 • p 78 - 88

## Efeito do hipoclorito de sódio em diferentes níveis tróficos do ambiente aquático

O hipoclorito de sódio (HS) é um composto químico usado em larga escala, frequentemente como desinfetante (e.g. lixívia) ou como um agente de branqueamento. Este composto é utilizado em hospitais, diversas indústrias (química, farmacêutica, de papel, e de tratamento de resíduos, entre outras) bem como em produtos para o lar. Os desinfetantes à base de cloro, quando presentes em águas residuais, reagem com a matéria orgânica, formando compostos organoclorados. Estes compostos são persistentes no ecossistema e são tóxicos para os organismos aquáticos. No presente estudo foi avaliada a toxicidade do HS em organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos. A toxicidade do HS foi estimada através da avaliação da inibição do crescimento da alga *P. subcapitata* e da mortalidade no microcrustáceo *T. platyurus* e no peixe-zebra *D. rerio*. A espécie mais sensível foi *T. platyurus* com um CEO<sup>1</sup> de 0,5 mg L<sup>-1</sup>, seguida por *P. subcapitata* (CEO de 1 mg L<sup>-1</sup>) e *D. rerio* (CEO de 5,5 mg L<sup>-1</sup>), confirmando a maior sensibilidade dos organismos zooplanctónicos. *T. platyurus* ocupa uma posição central na cadeia trófica aquática enquanto consumidor primário, pelo que os efeitos observados levantam alguma preocupação quanto ao potencial do HS para provocar desequilíbrios ao nível do ecossistema: quando ocorre um efeito negativo num determinado nível trófico (p. ex. morte de organismos representativos desse nível trófico), o nível trófico superior será afectado devido à escassez de alimento; o nível trófico inferior será também afectado dado que deixa de ser controlado de forma eficiente (redução da herbivoria/predação). Os efluentes contendo produtos químicos, usados em processos de desinfecção e branqueamento, que contenham o HS na sua composição devem ser alvo de uma monitorização contínua para que não haja descarga de HS em concentrações que causem efeitos adversos nos organismos aquáticos.

### Palavras-chave

*Pseudokirchneriella subcapitata*

*Thamnocephalus platyurus*

*Danio rerio*

algas

microcrustáceos

ecotoxicologia

Rita C Bicho<sup>1</sup> •

Jessica CL Ladewig<sup>1</sup>

Fernanda L Pitanga<sup>1</sup>

Sakchai McDonough<sup>2</sup>

Rhauil Oliveira<sup>1</sup>

Amadeu MVM Soares<sup>1</sup>

António JA Nogueira<sup>1</sup>

Inês Domingues<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biologia e CESAM (Centro de Estudos do Ambiente e do Mar), Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal.

<sup>2</sup> Aquaculture and Aquatic Resource Management, Asian Institute of Technology, Bangkok, Thailand

• rita.bicho@ua.pt

<sup>3</sup>CEO - Concentração de Efeito Observado - definida como a menor das concentrações testadas onde se observam efeitos significativos, quando comparados com os controlos.

## INTRODUÇÃO

O HS (NaOCl) é um dos produtos derivados do cloro mais utilizados (EC, 2007a; Barnes et al., 2008; AISE, 2009). As suas aplicações são vastas: na agricultura; aquacultura; no branqueamento de celulose e têxteis; na tinturaria; em produtos de limpeza; na lavagem de frutas e legumes; na produção de químicos (oxidantes, branqueadores e desinfectantes); no tratamento de águas, nomeadamente na desinfecção, esterilização e como algicidas de água potável e de piscinas e por último na desodorização de efluentes industriais, hospitalares e domésticos (Figura 1).



FIGURA 1: As várias aplicações do HS. Fonte das imagens: Produtos de limpeza: <http://www.prlog.org>; Desinfecção hospitalar: <http://www.empresasbs.com.br>; Tratamento de efluentes: <http://fortalezadesentupidora.com>; Tratamento águas piscinas: <http://www.plarexpoliester.com>; Tratamento produtos texteis: <http://natcal.pt>; Tratamento águas de lastro: <http://www.culturamix.com>

Durante quase todo o século XX não existiu legislação que limitasse o uso do cloro nos seus vários sectores de aplicação. Em Portugal foi publicado um Decreto-Lei (DL nº 306/2007 de 27 de Agosto), que refere apenas um valor mínimo recomendado de  $0,2 \text{ mg L}^{-1}$  e um valor máximo recomendado de  $0,6 \text{ mg L}^{-1}$  para tratamento de água para o consumo humano.

Actualmente os problemas ambientais associados ao cloro e seus derivados, como o HS, são inúmeros: toxicidade para o Homem e para os ecossistemas, acidificação, formação de gases poluentes, maus odores e produção de resíduos sólidos (Chuphal et al., 2005; Crebelli et al., 2005; EC, 2007b; EC, 2007a; HPA, 2007; Sorokin et al., 2007; AISE, 2009; HPA, 2011). As maiores fontes de contaminação por hipoclorito de

sódio nos ecossistemas são o tratamento de efluentes industriais e de águas de lastro e a desinfecção hospitalar (Chen et al., 2001; Emmanuel et al., 2004; Gray et al., 2006). Há alguns registos de águas cloradas resultantes de sistemas de tratamentos de águas e indústrias de produção de papel que têm sido despejadas deliberadamente em correntes de águas, lagos, rios e oceanos comprometendo todos os ecossistemas envolventes, bem como as espécies que neles habitam (Moore et al., 2004; López-Galindo et al., 2010).

Quando o HS é adicionado à água forma hidróxido de sódio, ácido hipocloroso (HOCl) e o ião hipoclorito (OCl<sup>-</sup>). O ácido hipocloroso e o ião hipoclorito são ambas formas de cloro livre, também denominado de cloro disponível ou cloro activo. No entanto, o ácido hipocloroso é mais eficaz como desinfectante. Estas formas de cloro livre, quando presentes em águas residuais, reagem com a matéria orgânica, formando compostos organoclorados. A amónia (NH<sub>3</sub>) é um composto que pode ser muito comum nos efluentes. Quando a amónia está presente na água, reage com o cloro livre para formar vários derivados do cloro (cloro combinado). Os produtos de reacção que se formam são as cloraminas. Estes compostos são persistentes no ecossistema e são tóxicos para os organismos aquáticos (Bicho, 2009).

Existem alguns estudos que têm demonstrado os efeitos tóxicos do hipoclorito de sódio em diferentes organismos (Tabela I).

TABELA I: Toxicidade do HS para organismos aquáticos de diferentes níveis tróficos.

	Espécies	Valores de HS (mg L <sup>-1</sup> )	Parâmetros avaliados	Tempo do teste (dias)	Referências bibliográficas
Produtores primários	<i>Dunaliella primolecta</i>	0,4	<sup>2</sup> CE <sub>50</sub>	3	(Kegley et al., 2010)
	<i>Pavlova lutheri</i>	4	CE <sub>50</sub>	3	(Kegley et al., 2010)
	<i>Porphyra yezoensis</i>	2,3	CE <sub>50</sub>	3	(Kegley et al., 2010)
Consumidores de 1ª ordem	<i>Mercenaria mercenaria</i>	0,001	<sup>3</sup> CL <sub>50</sub>	2	(AISE, 2009)
	<i>Crassostrea virginica</i>	0,026	CL <sub>50</sub>	2	(AISE, 2009)
	<i>Acartia tonsa</i>	0,029	CL <sub>50</sub>	2	(AISE, 2009)
	<i>Pandalus goniurus</i>	0,09	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Daphnia magna</i>	0,02	CL <sub>50</sub>	2	(AISE, 2009)
	<i>Baetis harrisoni</i>	0,0041	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	0,006	CL <sub>50</sub>	1	(AISE, 2009)
Consumidores de 2ª ordem	<i>Lepomis macrochirus</i>	1,93	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Pimephales promelas</i>	4,8	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Oncorhynchus kisutch</i>	0,032	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Clupea harengus</i>	0,065	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Cymatogaster aggregata</i>	0,071	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)
	<i>Leiostomus xanthurus</i>	0,09	CL <sub>50</sub>	4	(AISE, 2009)

<sup>2</sup> CE<sub>50</sub> é a concentração que causa 50% de inibição de **crescimento** das algas.

<sup>3</sup> CL<sub>50</sub> é a concentração que, num dado período de tempo, causa 50% de **mortalidade** dos organismos-teste.

Com o objectivo de aprofundar o conhecimento sobre os efeitos do HS e o seu potencial para exercer efeitos tóxicos nos ecossistemas aquáticos em diferentes níveis tróficos (Figura 2), os seguintes organismos foram escolhidos para este estudo: um produtor primário, a alga *Pseudokirchneriella subcapitata*; um consumidor de 1ª ordem, o microcrustáceo *Thamnocephalus platyurus* e um consumidor de 2ª ordem, o peixe-zebra (*Danio rerio*). As microalgas são os principais produtores primários e a base de cadeias alimentares aquáticas. Qualquer impacto adverso nestes indivíduos pode afectar directa ou indirectamente organismos de níveis tróficos superiores (como os microcrustáceos e o peixe-zebra). Estas espécies têm demonstrado elevada sensibilidade a vários tóxicos e são de fácil manutenção em laboratório, pelo que têm sido muito utilizadas como organismos modelo em estudos de toxicologia, principalmente na avaliação ecotoxicológica de químicos. Os efeitos da exposição ao HS foram avaliados através de dois parâmetros: mortalidade e crescimento. Foi realizada uma análise comparativa destes parâmetros de modo a elucidar o potencial tóxico do HS nestes organismos e compreender melhor o risco que podem representar para ecossistemas aquáticos.

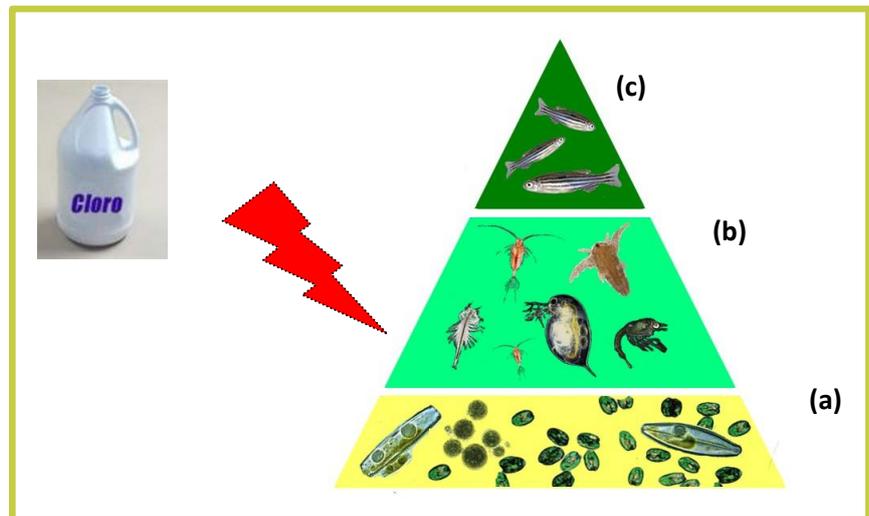


FIGURA 2: Nos ecossistemas aquáticos a presença do HS pode causar efeitos em organismos de diferentes níveis da cadeia trófica incluindo (a) produtores primários – algas, (b) consumidores de 1ª ordem – microcrustáceos (c) consumidores de 2ª ordem – peixes. Fonte das imagens: Embalagem de Cloro: <http://oquefaco-primeirosocorros.blogspot.com>; Peixes-zebra: <http://www.shuanglong6688.com>

## MATERIAL E MÉTODOS

### **Químico**

Hipoclorito de sódio (HS) ~10 % em solução aquosa (CAS Number: 7681-52-9) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

### **Bioensaios com algas**

A alga *P. subcapitata* é recomendada como uma espécie padrão para ensaios de toxicidade (EC, 1992; Blaise e Vasseur, 2005; OECD, 2006). As algas foram obtidas a partir de culturas estabelecidas no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro ([www.ua.pt/bio](http://www.ua.pt/bio)), onde foram mantidas em meio de cultura artificial (*Woods Hole MBL*<sup>4</sup>) a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  com um fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuro.

O ensaio de inibição de crescimento em microplacas para a alga *P. subcapitata* foi escolhido para avaliar a

<sup>4</sup> Woods Hole MBL pH 7,2 é um meio de cultivo para crescimento de algas de água doce. É constituído por água destilada, macronutrientes (os sais importantes encontrados na maioria das fontes de água doce), micronutrientes (sais menos abundantes e frequentemente fatores limitantes para o crescimento de microalgas em água doce) e um tampão (Tris). (<http://www.marine.csiro.au/microalgae/methods/Media%20MARC%20recipes.htm#MBL>)

toxicidade do HS. O ensaio realizado foi baseado nos protocolos da OCDE<sup>5</sup> e *Environmental Canada*<sup>6</sup>. As algas foram expostas em microplacas de 96 poços aos tratamentos estabelecidos. Em cada poço da microplaca foram incubados 240  $\mu\text{L}$  da solução a ser testada e 10  $\mu\text{L}$  de inóculo de algas, ambos distribuídos nas placas usando uma micropipeta. O teste compreendeu 10 tratamentos cada um com quatro réplicas (figura 3). Foram utilizados como tratamentos um controlo (meio MBL) e concentrações de HS de 0,1; 1; 3,2; 5; 10; 16; 32; 50 e 100  $\text{mg L}^{-1}$ . A concentração inicial da alga em cada poço da microplaca foi de  $1 \times 10^4$  células  $\text{ml}^{-1}$ , pelo que, tendo em conta a diluição que ocorre no inóculo inicial quando a alga é adicionada a cada poço, a concentração de células do inóculo inicial foi ajustada para  $2,5 \times 10^5$  células  $\text{ml}^{-1}$  através de uma contagem na câmara de Neubauer<sup>7</sup> e diluição controlada. As placas foram cobertas com plástico-filme transparente e dispostas aleatoriamente para incubação numa câmara climática durante 72 h a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  com uma intensidade luminosa constante ( $60 - 120 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ ). A densidade óptica das algas foi medida após, 24, 48 e 72 h por um espectrofotómetro (comprimento de onda de 450 nm; Labsystem Multiskan EX leitor de microplacas). Os valores da densidade óptica obtidos pelo espectrofotómetro foram convertidos para a concentração de células de alga usando uma recta de calibração previamente determinada:

$$C_{P. subcapitata} = 0,00056 + \text{ABS} \times 0,046$$

C é a concentração da alga (células por ml) e ABS é a absorvância obtida a 450 nm.

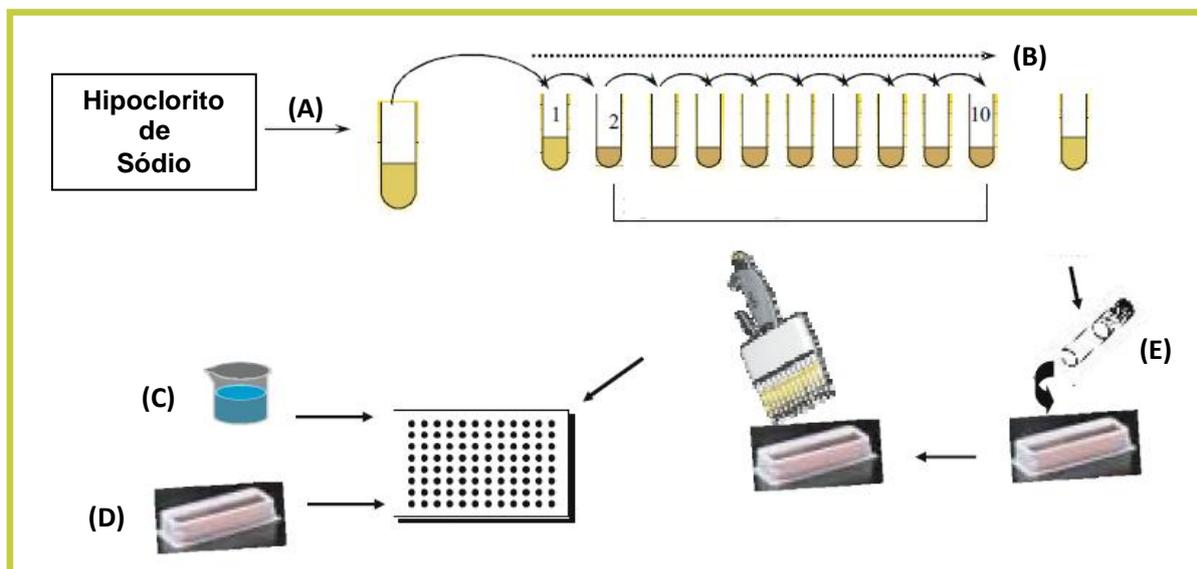


FIGURA 3: Ilustração dos passos de montagem do teste de algas em microplacas. A) preparação da solução stock de HS; B) preparação das concentrações de exposição por meio de diluições sucessivas controladas; C) Disposição na placa de 240  $\mu\text{L}$  de meio de MBL para controlos; D) Disposição de 240  $\mu\text{L}$  de soluções de exposição; E) No final, pipetagem de 10  $\mu\text{L}$  do inóculo de alga nos poços. Mais detalhes sobre o teste, incluindo diferentes sugestões de disposição das concentrações nas placas, podem ser encontrados nos protocolos citados na metodologia.

<sup>5</sup> Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

<sup>6</sup> Agência Ambiental do Canadá

<sup>7</sup> Câmara de Neubauer é uma lâmina de microscopia optica de estrutura diferenciada com marcações em quadrantes que permitem estimar a concentração de células num volume conhecido.

### Bioensaios com microcrustáceos

*T. platyurus* é um camarão de água doce muito utilizado em avaliações ecotoxicológicas. Os organismos foram obtidos comercialmente como parte dos Thamnotoxkit F kits da Microbiotests, Inc., Mariakerke-Gent, Bélgica. O ensaio de toxicidade aguda foi realizado de acordo com os procedimentos descritos no protocolo Thamnotoxkit<sup>8</sup>. Os cistos de *T. platyurus* disponibilizados no kit foram incubados em placas de Petri com meio de cultura (EPA freshwater medium<sup>9</sup>) sob uma fonte de luz durante 20 a 22 h, a 25°C. Todas as soluções foram preparadas com meio de água doce da EPA. O teste compreendeu 6 tratamentos cada um com 3 réplicas. Em cada tratamento as concentrações de HS utilizadas foram: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 e 0,6 mg L<sup>-1</sup>. Microplacas de 24 poços foram preenchidas com 1 ml da solução teste ou do controlo e dez indivíduos foram posteriormente distribuídos aleatoriamente por poço (Figura 4). As microplacas do ensaio foram incubados no escuro, a 25 °C, durante 24 h. A mortalidade foi observada no final do período de exposição utilizando uma lupa binocular.

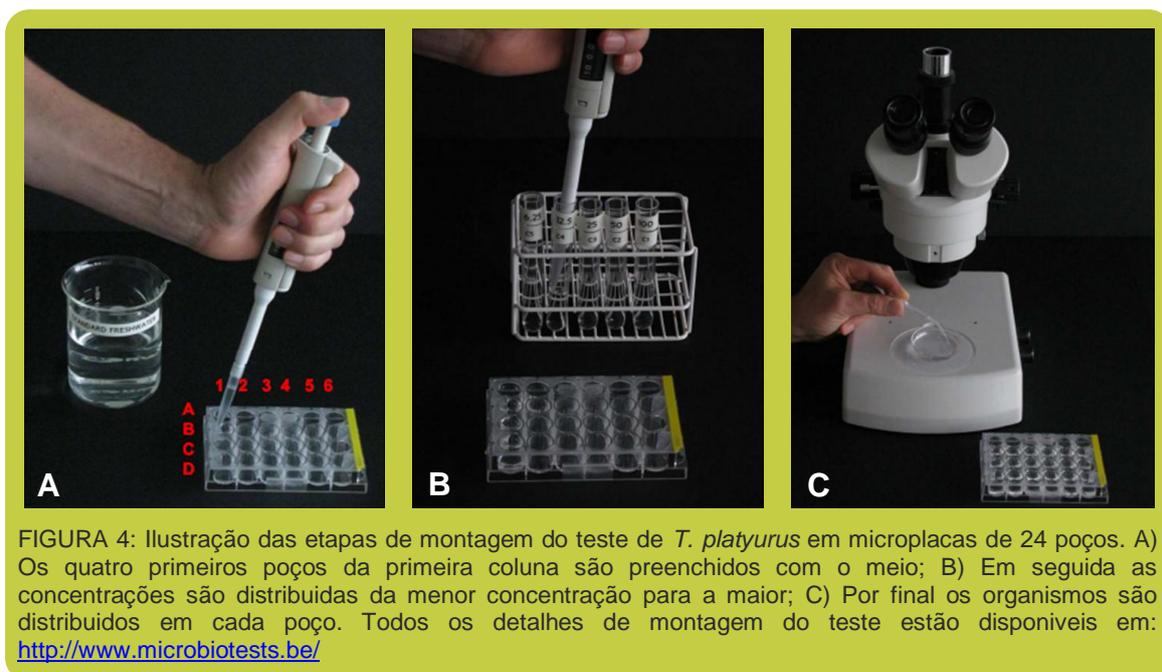


FIGURA 4: Ilustração das etapas de montagem do teste de *T. platyurus* em microplacas de 24 poços. A) Os quatro primeiros poços da primeira coluna são preenchidos com o meio; B) Em seguida as concentrações são distribuídas da menor concentração para a maior; C) Por final os organismos são distribuídos em cada poço. Todos os detalhes de montagem do teste estão disponíveis em: <http://www.microbiotests.be/>

### Bioensaios com peixes-zebra

Para este ensaio foram utilizados peixes-zebra adultos (*D. rerio*) obtidos directamente da cultura estabelecida no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro ([www.ua.pt/bio](http://www.ua.pt/bio)). Os peixes-zebra são mantidos em água filtrada por carvão activado e membrana de osmose reversa, a uma temperatura de 28 ±1°C. Periodicamente são adicionados sais minerais à água para manter a condutividade do meio a 750 ±50 µS cm<sup>-1</sup>, e o pH é mantido a 7,5 ±0,5. Bombas de oxigenação são utilizadas para manter o conteúdo de oxigénio dissolvido a 95 % de saturação. A sala da cultura tem o fotoperíodo controlado de 16 h de luz e 8 h de escuro. Os peixes – zebra adultos são alimentados duas vezes por dia com ração comercial facilmente obtida em lojas de animais (ZM 400 Granular) e uma vez por dia com *Artemia salina* cultivada em laboratório ou comprada sob a forma congelada.

<sup>8</sup> O protocolo pode ser encontrado em: <http://www.microbiotests.be/>

<sup>9</sup> EPA é a Agência de Protecção Ambiental do Estados Unidos da América. O meio de cultivo tem como base água destilada e sais encontrados comumente em ecossistemas aquáticos de água doce.

Para o ensaio com os peixes-zebra adultos seguiu-se o protocolo (OECD, 1992), que recomenda uma duração de exposição de 96 h em condições semi-estáticas, ou seja, com renovação do meio para que as concentrações do tóxico e a qualidade da água sejam mantidas. Os animais usados no ensaio tinham idade e tamanho similares ( $2,0 \pm 1,0$  cm, 1 ano de idade). Todas as soluções teste de HS foram feitas em meio sintético com pH de  $7,5 \pm 0,5$  e condutividade de  $750 \pm 50$   $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Ao longo do ensaio, as condições de oxigénio dissolvido foram mantidas acima de 80 % de saturação, o fotoperíodo usado foi 16 h de luz e 8 h de escuro, e a temperatura foi de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Foram utilizados 7 tratamentos: controlo e seis soluções de HS nas concentrações de 0,7; 2,2; 3; 5,5; 7,4 e  $10,1 \text{ mg L}^{-1}$ . Distribuíram-se 9 peixes por réplica, num total de 3 réplicas por tratamento. Os peixes não foram alimentados ao longo do teste. A mortalidade foi anotada diariamente.

### Análise estatística

Os resultados obtidos foram utilizados para o cálculo de médias  $\pm$  desvio padrão, para cada grupo de tratamento. Para avaliar as diferenças entre os tratamentos foi efectuada uma Análise de Variância (ANOVA) de um factor. Quando os dados não seguiam uma curva de distribuição normal, não cumprindo os pressupostos da ANOVA, usou-se o teste Kruskal-Wallis (SPSS, 2004). No caso de serem detectadas diferenças significativas entre os tratamentos, os testes Dunnett ou Dunn's foram usados para verificar as diferenças entre os diferentes tratamentos com HS e o controlo. O cálculo dos valores de  $\text{CL}_{50}$  foi efectuada através da análise dos probitos recorrendo ao programa MINITAB 13 (Minitab, 2000). Todas as análises estatísticas foram realizadas para um nível de significância de 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os produtos de desinfecção e branqueamento contendo HS estão entre os mais utilizados em todo o mundo. O presente estudo analisou a toxicidade do HS para organismos pertencentes a três níveis diferentes das cadeias tróficas aquáticas. *T. platyurus* foi o organismo mais sensível seguido pela alga *P. subcapitata* e por fim pelo peixe-zebra. Os valores de  $\text{CE}_{50}$  obtidos para cada organismo são apresentados na Tabela II.

TABELA II: Valores de  $\text{CE}_{50}$  para os diferentes organismos aquáticos expostos a HS.

Espécie	$\text{CE}_{50}$
<i>P. subcapitata</i>	$1,594 \text{ mg L}^{-1}$
<i>T. platyurus</i>	$0,205 \text{ mg L}^{-1}$
<i>D. rerio</i> (adulto)	$5,53 \text{ mg L}^{-1}$

Os resultados dos bioensaios com as algas (*P. subcapitata*) expostas ao HS são apresentados na Figura 5. Nesta está representada a densidade celular (células de alga por ml) registada para as diversas concentrações de HS após 72 h de exposição. Com é possível verificar, conforme a concentração de HS aumentou, a densidade da alga decresceu, sendo que a partir de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  a densidade se aproximou de zero. A Tabela II mostra o valor de  $\text{CE}_{50}$  para *P. subcapitata* de  $1,594 \text{ mg L}^{-1}$ , sendo que este valor corresponde à concentração de HS que causou uma inibição de 50% no crescimento algal, comparativamente ao controlo (Figura 5). Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com estudos anteriores (Tabela I) os quais apresentaram valores de  $\text{CE}_{50}$  para outras espécies de alga (*D. primolecta*, *P. lutheri*, *P. vezoensis*) expostas a HS as quais respondem numa larga gama de concentrações variando entre  $0,4$  e  $4 \text{ mg L}^{-1}$ . A toxicidade do HS pode variar de acordo com a espécie de alga utilizada, densidade celular, composição do meio, condições físicas da cultura, entre outros factores (Whitton, 1968). Por outro

lado, a diferença de toxicidade entre as espécies de algas pode estar relacionada com a capacidade diferenciada de cada espécie em metabolizar ou tolerar as condições alteradas pelo HS. Alguns trabalhos relatam também a capacidade de diferentes algas em metabolizar alguns pesticidas (Caceres et al., 2008).

As algas integram o fitoplâncton, que é a base da maioria das teias tróficas aquáticas (produtores primários) e são responsáveis por grande parte da produtividade dos ecossistemas aquáticos (Stauber, 1995). Qualquer impacto nas comunidades fitoplanctónicas pode, directa ou indirectamente, afectar os organismos de níveis tróficos superiores. Algas marinhas e de água doce têm-se demonstrado particularmente sensíveis a uma ampla gama de poluentes orgânicos e inorgânicos (Florence e Stauber, 1991), incluindo o HS, o qual inibe a fotossíntese de organismos fitoplanctónicos de modo irreversível (Eppley et al., 1976).

O microcrustáceo *T. platyurus* é um organismo modelo para testes de toxicidade e, sendo um consumidor de 1ª ordem, tem um papel importante na cadeia alimentar aquática, pois alimenta-se dos produtores primários e por sua vez, serve de alimento aos consumidores de 2ª ordem. Os resultados para *T. platyurus* podem ser observados na Figura 6, onde estão representadas as taxas de sobrevivência do microcrustáceo registadas nas diferentes concentrações de HS. Quanto maior a concentração de HS menor foi a taxa de sobrevivência de *T. platyurus*. A Tabela II mostra que o valor de CE<sub>50</sub> para o microcrustáceo foi o menor comparativamente aos outros organismos testados neste trabalho (0,205 mg L<sup>-1</sup>), demonstrando ser o organismo mais sensível à exposição ao HS. Em outros estudos, vários outros consumidores de 1ª ordem pertencentes a diferentes filos (e.g. artrópodes, moluscos, anelídeos) demonstraram ser altamente sensíveis à exposição ao HS (EC, 2007a) (Tabela I).

*T. platyurus* é um organismo zooplânctónico. Esta espécie alimenta-se directamente de partículas orgânicas e de

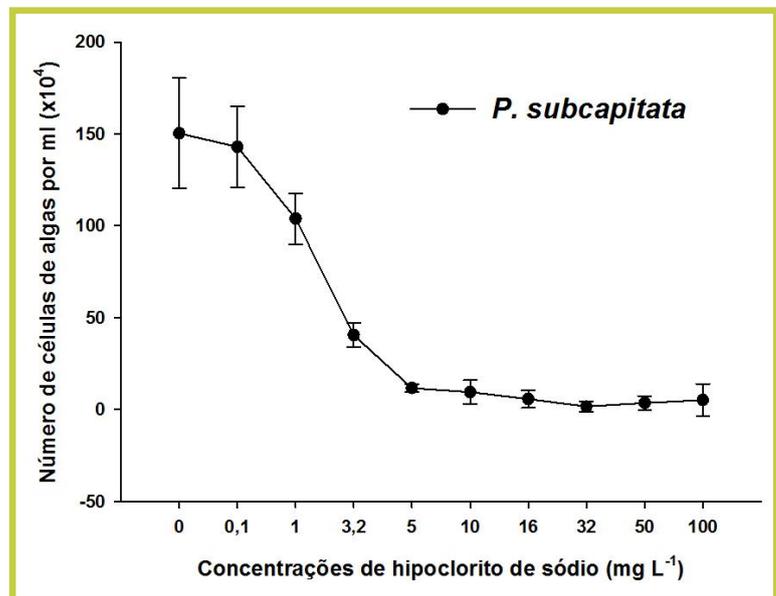


FIGURA 5: Crescimento de alga *P. subcapitata*, expresso em número de células de alga por ml, após 72 h de exposição ao HS (valores médios  $\pm$  desvio padrão).

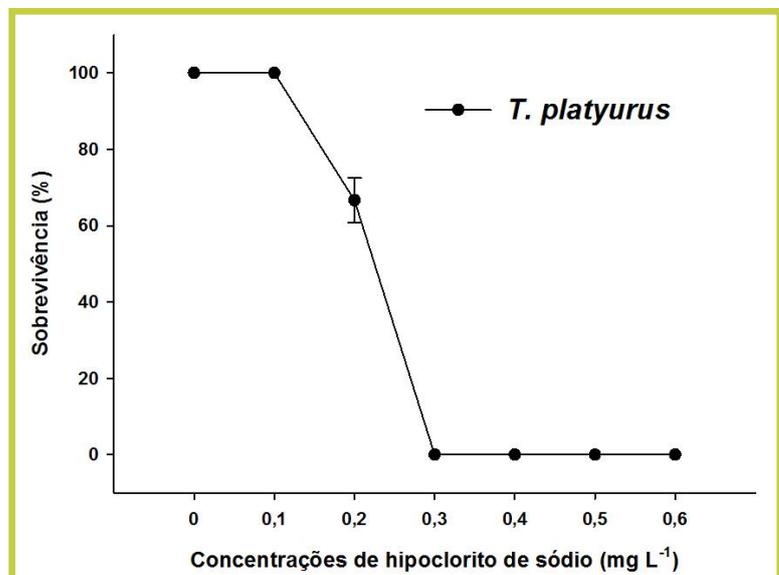


FIGURA 6: Percentagem de sobrevivência do microcrustáceo *T. platyurus* após 24 h de exposição ao HS (valores médios  $\pm$  desvio padrão).

algas em suspensão na coluna de água. Por outro lado, é uma importante fonte de alimento para peixes e aves aquáticas. Vários estudos têm demonstrado que a comunidade zooplânctônica é muito sensível à poluição (Uriarte e Villate, 2004; Vandysh, 2004). O declínio das comunidades zooplânctônicas pode afectar os níveis tróficos inferiores e superiores, podendo levar ao colapso da cadeia trófica. O *T. platyurus* foi a espécie mais sensível ao HS; isto significa que, num ecossistema aquático, concentrações mais baixas de HS causam efeitos deletérios nos consumidores primários e são necessárias concentrações de HS superiores para causarem efeitos agudos em outros níveis tróficos (produtores primários e consumidores secundários). No entanto, quando se registarem esses efeitos agudos nas outras espécies já estarão a ocorrer efeitos indirectos na cadeia trófica devido ao declínio do zooplâncton. Por um lado, o fitoplâncton deixa de ser controlado pelos consumidores primários, o que pode levar à ocorrência do elevado crescimento (*bloom*) de fitoplâncton. Por outro lado, fica comprometida a quantidade de alimento para peixes e aves aquáticas, o poderá causar o declínio populacional destes animais.

O peixe-zebra é um dos organismos modelo mais utilizados em ecotoxicologia. O seu tamanho reduzido e ciclo de vida curto permitem que este animal seja facilmente mantido e reproduzido em laboratório. Os resultados para esta espécie são apresentados na Figura 7, onde estão representadas as taxas de sobrevivência do peixe-zebra em função das concentrações de HS, após 96 h de exposição.

Apenas as concentrações acima de  $3 \text{ mg L}^{-1}$  induziram efeitos deletérios em *D. rerio*. A Tabela II apresenta o valor de  $CE_{50}$  ( $5,53 \text{ mg L}^{-1}$ ) calculado para o peixe-zebra neste estudo.

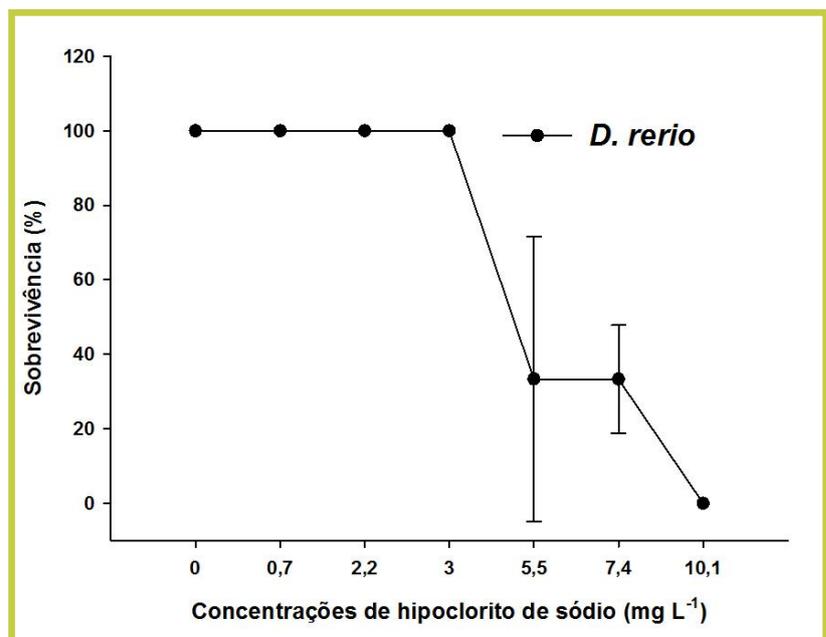


FIGURA 7: Percentagem de sobrevivência do peixe-zebra após 96h de exposição ao HS (valores médios  $\pm$  desvio padrão).

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Nas últimas décadas têm sido realizados vários estudos de avaliação da toxicidade do HS com organismos marinhos e de água doce de diferentes níveis tróficos. Os resultados obtidos no presente estudo concordam com o que é descrito na literatura científica vigente. O organismo zooplânctônico *T. platyurus* destacou-se como o organismo modelo mais sensível à exposição. Contudo, é importante salientar que são necessários estudos de exposição prolongada e contínua para uma melhor avaliação dos riscos para os ecossistemas aquáticos associados à exposição de HS.

Em regiões de elevado tráfego marítimo e receptoras de águas de lastro tratadas com HS, as doses do mesmo podem ultrapassar as 2 mg L<sup>-1</sup> (IMO, 2008). Este valor é mais elevado do que os EC<sub>50</sub> encontrados para os organismos neste estudo e mais elevado que os descritos na bibliografia para outras espécies de organismos aquáticos. Para além da estratégia de avaliação de risco do HS já mencionada, deve-se considerar de extrema importância a determinação das concentrações ambientais reais, para que se possa realizar estudos sobre os efeitos da exposição ao HS em concentrações realistas.

Tendo em vista a diversidade de aplicações e ecossistemas potencialmente afectados pela utilização do HS sugere-se o desenvolvimento da investigação para além dos parâmetros tradicionais de ecotoxicologia, envolvendo factores adicionais como a diversidade de organismos pertencentes a diferentes níveis tróficos, estudos de toxicidade crónica e a exposição a concentrações ambientais reais.

---

**agradecimentos** • Os autores deste trabalho agradecem à Fundação para Ciência e Tecnologia (FCT – Portugal) pelo financiamento das bolsas de Pós Doutoramento de Inês Domingues (SFRH/BPD/31752/2006), de Doutoramento de Rhaul de Oliveira (SFRH/BD/62605/2009) e de Jessica C.L. Ladewig (SFRH/BD/62561/2009), e de Técnico de Investigação de Rita C Bicho (PTDC/AMB/64497/2006).

---

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AISE (2009). Environmental classification of sodium hypochlorite containing bleach products. International association for Soaps, Detergents and Maintenance products Brussels, 1- 13 pp.
- Barnes CS, Kennedy K, Gard L, Forrest E, Johnson L, Pacheco F, Hu F, Amado M, Portnoy JM (2008). The impact of home cleaning on quality of life for homes with asthmatic children. *Allergy and Asthma Proceedings* 29: 197-204.
- Bicho RCSS (2009). Efeito do cloro no desenvolvimento e no eixo tiróide da tilápia moçambicana (*Oreochromis mossambicus*). Dissertação de Mestrado. Universidade do Algarve, Faro, 115 pp.
- Blaise C, Vasseur P (2005). Algal Microplate Toxicity Test. *In*: C Blaise, J-F Férard (eds.), Small-scale Freshwater Toxicity Investigations, Springer, Netherlands, pp. 137-179.
- Caceres TP, Megharaj M, Naidu R (2008). Biodegradation of the Pesticide Fenamiphos by Ten Different Species of Green Algae and Cyanobacteria. *Current Microbiology* 57: 643-646.
- Chen CM, Shih ML, Lee SZ, Wang JS (2001). Increased toxicity of textile effluents by a chlorination process using sodium hypochlorite. *Water Science and Technology* 43: 1-8.
- Chuphal Y, Kumar V, Thakur I (2005). Biodegradation and Decolorization of Pulp and Paper Mill Effluent by Anaerobic and Aerobic Microorganisms in a Sequential Bioreactor. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21: 1439-1445.
- Crebelli R, Conti L, Monarca S, Feretti D, Zerbini I, Zani C, Veschetti E, Cutilli D, Ottaviani M (2005). Genotoxicity of the disinfection by-products resulting from peracetic acid- or hypochlorite-disinfected sewage wastewater. *Water Research* 39: 1105-1113.
- EC (1992). Biological test method growth inhibition test using the freshwater alga *Selenastrum capricornutum*. Environmental Science and Technology Centre, Ottawa.
- EC (2007a). European Union Risk Assessment Report Sodium Hypochlorite. Istituto Superiore di Sanità, Italy, 1- 310 pp.
- EC (2007b). European Union Risk Assessment Report Chlorine. Istituto Superiore di Sanità, Italy, 1- 212 pp.
- Emmanuel E, Keck G, Blanchard J-M, Vermande P, Perrodin Y (2004). Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital wastewater. *Environment International* 30: 891-900.

- Eppley RW, Renger EH, Williams PM (1976). Chlorine reactions with seawater constituents and the inhibition of photosynthesis of natural marine phytoplankton. *Estuarine and Coastal Marine Science* 4: 147-161.
- Florence TM, Stauber (1991). The toxicity of heavy metals to aquatic organisms. Proceedings of IIR Conference on Environmental Monitoring, September 26-27, Sydney.
- Gray DK, Duggan IC, MacIsaac HJ (2006). Can sodium hypochlorite reduce the risk of species introductions from diapausing invertebrate eggs in non-ballasted ships? *Marine Pollution Bulletin* 52: 689-695.
- HPA (2007). Sodium hypochlorite Toxicological overview. London
- HPA (2011). Compendium of Chemical Hazards Sodium hypochlorite. London
- IMO (2008). Harmful Aquatic Organisms in Ballast Water. International Maritime Organization Germany.
- Kegley SE, Hill BR, Orme S, Choi AH (2010). PAN Pesticide Database. San Francisco. <http://www.pesticideinfo.org>
- López-Galindo C, Garrido MC, Casanueva JF, Nebot E (2010). Degradation models and ecotoxicity in marine waters of two antifouling compounds: Sodium hypochlorite and an alkylamine surfactant. *The Science of The Total Environment* 408: 1779-1785.
- Minitab (2000). Minitab Statistical Software (version 13). Minitab, Inc.
- Moore MN, Depledge MH, Readman JW, Paul Leonard DR (2004). An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 552: 247-268.
- OECD (1992). Test No 203: Fish Acute Toxicity Test. Organization for Economic Co-Operation and Development.
- OECD (2006). Test No 201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. Organization for Economic Co-Operation and Development.
- Sorokin N, Atkinson C, Aldous E, Rule K, Comber S (2007). Proposed EQS for Water Framework Directive Annex VIII substances: chlorine (free available). Bristol.
- SPSS (2004). SPSS Inc., Chicago.
- Stauber JL (1995). Toxicity testing using marine and freshwater unicellular algae. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 1: 15-24.
- Uriarte I, Villate F (2004). Effects of pollution on zooplankton abundance and distribution in two estuaries of the Basque coast (Bay of Biscay). *Marine Pollution Bulletin* 49: 220-228.
- Vandysh OI (2004). Zooplankton as an Indicator of the State of Lake Ecosystems Polluted with Mining Wastewater in the Kola Peninsula. *Russian Journal of Ecology* 35: 110-116.
- Whitton BA (1968). Effect of light on toxicity of various substances to *Anacystis nidulans*. *Plant and Cell Physiology* 9: 23-26.