

ECOTOXICOLOGIA AQUÁTICA: DA TEORIA À PRÁTICA — ROTINA DIÁRIA EM UM LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA

*AQUATIC ECOTOXICOLOGY: FROM THEORY TO PRACTICE — DAILY ROUTINE IN
AN ECOTOXICOLOGY LABORATORY*

*ECOTOXICOLOGÍA ACUÁTICA: DE LA TEORÍA A LA PRÁCTICA — RUTINA DIARIA EN
UN LABORATORIO DE ECOTOXICOLOGÍA*

Sabrina da Silva Lourenço¹
Thaís Maria Nadal²

Resumo

Este trabalho apresenta o conceito de ecotoxicologia, além de atividades realizadas em laboratório que geram um ambiente seguro para resultados fidedignos. O intuito dos biotestes abordados neste artigo foi identificar substâncias químicas nos corpos hídricos através das análises em laboratório de águas. Determinar tais contaminantes na água e em áreas afetadas é de suma importância à recuperação do equilíbrio ambiental, bem como para adoção de medidas de contenção. Os organismos utilizados nos ensaios são cultivados no próprio laboratório, tal como seu alimento. Demonstra-se a forma de cultura desses organismos, os cuidados necessários para sua sobrevivência e os critérios de aceitação para uso nos ensaios ecotoxicológicos.

Palavras-chave: ecotoxicologia; laboratório; análise ambiental; biotestes.

Abstract

This paper presents ecotoxicology concept, as well as activities performed in laboratory that generate a safe environment for reliable results. The biotests' purpose discussed in this paper was to identify chemical substances in water bodies through water laboratory analysis. Determining such contaminants in water and in affected areas is of utmost importance for the environmental balance recovery, as well as for the adoption of containment measures. The organisms used in the tests are cultured in the laboratory, as are their food. We demonstrate how to culture these organisms, the necessary care for their survival, and the acceptance criteria for use in ecotoxicological tests.

Keywords: ecotoxicology; laboratory; environmental analysis; biotests.

Resumen

Este trabajo presenta el concepto de ecotoxicología, además de actividades realizadas en laboratorios que generan un ambiente seguro para resultados fidedignos. El propósito de las biopruebas tratadas en este artículo fue identificar sustancias químicas en los cuerpos hídricos a través de análisis en laboratorio de aguas. Determinar contaminantes en el agua y en áreas afectadas es de suma importancia para la recuperación del equilibrio ambiental, así como para la adopción de medidas de contención. Los organismos utilizados en las pruebas son cultivados en el laboratorio mismo, así como su alimento. Se demuestra la forma de cultivo de esos organismos, los cuidados necesarios para su supervivencia y los criterios de aceptación para uso en las pruebas ecotoxicológicas.

Palabras-clave: ecotoxicología; laboratorio; análisis ambiental; biopruebas.

1 Introdução

¹ Acadêmica no Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas no Centro Universitário Internacional Uninter

² Bióloga. Mestre em Gestão da Qualidade Ambiental- Professora da área de Geociências – Escola Superior de Educação, no Centro Universitário Internacional Uninter.

O lançamento desenfreado de substâncias químicas, domésticas ou industriais, em corpos hídricos, ocasiona sua modificação biológica, química e física, prejudica a fauna e a flora dos ecossistemas, resultando na escassez de água de boa qualidade. Uma das formas de atestar a qualidade hídrica é através de ensaios laboratoriais, a partir de duas formas de monitoramento que, embora distintas, são complementares: a análise da composição química e a análise da composição biológica. Na primeira, identificam-se e são quantificadas substâncias químicas. Na segunda, caracterizam-se os efeitos causados pelas substâncias em questão. Para indicação destas características temos a *ecotoxicologia*, ciência que estuda os efeitos das substâncias nos organismos vivos. Tal ciência é uma forma de monitoramento biológico, que investiga os efeitos agudos e crônicos causados por substâncias químicas isoladas ou efluentes através de biotestes com organismos vivos. A análise ecotoxicológica tem por objetivo identificar se as substâncias químicas lançadas são nocivas e como se manifestam seus efeitos. Em muitos organismos vivos, as reações são indubitáveis, e tal característica os capacita para utilização como detectores biológicos de medição de efeitos. Os critérios decisivos para escolha do organismo-teste consideram facilidade de cultura, disponibilidade e ciclo reprodutivo.

Para garantir a segurança e a qualidade dos testes, as *Boas Práticas de Laboratório* (BPL) NIT-DICLA-035 são um conglomerado de princípios, seguidos corretamente, garantem a segurança dos procedimentos realizados e a fiabilidade dos laudos emitidos. As BPL orientam desde o recebimento da amostra aos cuidados no momento da realização dos testes. É importante ressaltar que, para cada procedimento realizado em laboratório, seja medir a temperatura do ambiente, realizar calibração de equipamento ou preparo de solução, é preenchido um *registro de qualidade*³, o mesmo serve para a identificação do técnico responsável pela atividade realizada. As BPL também englobam o uso de equipamentos de qualidade, calibrados e verificados, todo equipamento utilizado em laboratório deve possuir uma etiqueta contendo o código de identificação do equipamento, nº do certificado, data de calibração e data da próxima calibração. Utilizar equipamentos que estejam com o prazo de calibração em dia torna os resultados, das análises e rotinas diárias, fidedignos.

Trabalhando em conjunto com as BPL há os Procedimentos Operacionais Padrão (POP), que descrevem detalhadamente todas as atividades desenvolvidas no laboratório, tais como lavagem de vidrarias, manuseio de equipamento, calibração de equipamento, preparo de soluções, manuseio dos organismos-teste, realização dos testes, etc. Vale ressaltar que as vidrarias de laboratório, tais como balões volumétricos e pipetas, possuem um número de

³ CIMM 2022: conjunto de documentos elaborados para atestar o cumprimento de todas as diretrizes para funcionamento confiável das atividades.

registro cravado em sua estrutura, este número comprova que o material foi devidamente testado e aprovado para uso.

Seguindo as diretrizes citadas, o laboratório procederá como exige a política da qualidade, que busca elevar cada vez mais o serviço através do desenvolvimento capacitado de uma equipe ordenada e idônea, de modo que se obtenham resultados analíticos indubitáveis. Ratifica-se que utilizar equipamento com prazo de calibração excedido comprometerá os resultados das análises e tornará necessária a repetição do teste com equipamento aprovado.

2 Generalidades do organismo-cultivo

Os organismos utilizados nos ensaios são cultivados no laboratório e sua progenitora é a *Daphnia magna* Straus, 1820 — *Cladocera Crustáceas* (Figura 1). Este organismo de água doce tem um tamanho médio entre 5 mm e 6 mm, alimenta-se através da filtração. Para cultivo desses organismos, os lotes são iniciados com 50 neonatos (Figura 2), com 25 organismos para cada 1 litro de meio de cultivo (M4)⁴. Para a manutenção diária das matrizes, utilizam-se *beckeres* de 2 litros, acomodados em uma incubadora aprovada para uso, e recebem fotoperíodo de 12 horas a 16 horas em uma temperatura que varia de 18 a 22°C. Caso um lote seja iniciado contendo mais de 25 organismos por litro, isto contribuirá para a origem de machos e para o surgimento de efípios (Figura 3). Tais alterações tornam os neonatos da matriz inadequados para uso. Sob condições adequadas, a daphnia é um organismo de fácil cultivo, reproduz-se assexuadamente por partenogênese e origina apenas fêmeas idênticas, evitando a variabilidade genética. Por conta disto, os machos não são aceitos dentro dos lotes.

Figura 1: *Daphnia magna* com ovos na bolsa incubadora



Fonte: Wikipedia, 2022.

⁴ Água utilizada para manutenção do cultivo dos organismos-teste.

Figura 2: Neonato de *Daphnia magna*



Fonte: ResearchGate, 2022.

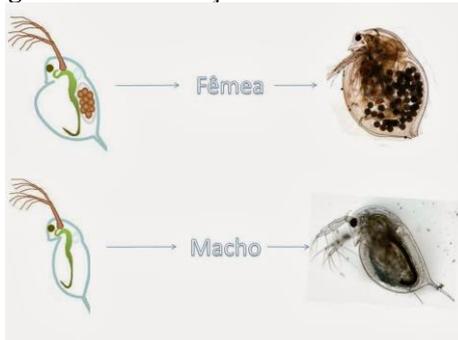
Figura 3: *Daphnia* com efípio



Fonte: Hmn.Wiki (2022).

O surgimento dos primeiros embriões, nas daphnias de um lote recém-aberto, ocorre em poucos dias. Para maior segurança, a primeira troca de meio deve ser realizada oito dias após aberto, fase em que todas estarão com os ovos perceptíveis, sendo mais fácil a identificação de um organismos-macho dentro do lote. O macho se difere em tamanho, forma, cor e se movimenta de forma mais rápida (Figura 4). Caso seja identificado algum macho dentro do lote, deve ser retirado e descartado, visto que a reprodução sexuada garante a variabilidade genética.

Figura 4: Diferenciação da fêmea e do macho



Fonte: Gomes Bettas de linhagem (2022).

3 Meio de cultivo, alimentação e manejo dos organismos

A qualidade do M4 e da alimentação são essenciais para a cultura saudável da daphnia, porém, não são os únicos fatores que farão o cultivo dos organismos ser bem-sucedido, porquanto a forma como esses organismos são manipulados também influenciará sua qualidade de vida. Portanto, é imprescindível que se mantenha um padrão na manutenção diária dos organismos, pois as mínimas variações podem causar perturbações e alterações em seu desenvolvimento e ciclo reprodutivo. É importante salientar que, apesar do rigor na qualidade dos cultivos, os organismos também sofrem influência pela forma como o técnico realiza seu manejo. A depender da destreza e da subjetividade de cada técnico, o manejo mais ou menos preciso pode causar influência na taxa de mortalidade. Choques mecânicos e demasiado tempo fora do ambiente aquático são alguns dos fatores inerentes à operação do técnico analista. Quando um laboratório possui mais de um técnico operando sobre a manutenção e cultivo dos organismos, essa variável torna-se mais evidente. Uma das formas de equalizar essas variações é a responsabilização que o técnico tem sobre um cultivo. Assim, cada técnico pode medir a qualidade do seu cultivo observando como resposta a taxa de mortalidade, e operar objetivando a eficiência e a maximização do ciclo de vida. O meio M4 foi desenvolvido para suprir todas as necessidades vitais das daphnias, garantindo sua qualidade de vida. Após sua preparação, medem-se alguns parâmetros para aprovação, entre eles o pH, cujo valor deve estar entre 7,6 e 8,0 (ABNT NBR 12713/2016, p.23).

A quantidade do meio M4 a ser preparada irá variar de acordo com a quantidade de lotes e matrizes (Tabela 1).

Tabela 1: Soluções para preparo M4

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	CaCl ₂ .2H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
2	MgSO ₄ .7H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
3	KCl	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
4	NaHCO ₃	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
5	MnCl ₂ .4h ₂ O LiCl RbCl SrCl ₂ .6H ₂ O CuCL ₂ .2H ₂ O ZnCl ₂ CoCl ₂ .6H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*

6	H3BO3 NaBr Na2MoO4.2H2O NH4VO3 KI Na2SeO3	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
7	Na2SiO3	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada, deixando em agitação até o clareamento da solução.
8	Na2EDTA.7H2O FeSO4.7H2O	Vide NBR 12713	Preparar as soluções separadamente. Misturar as duas soluções e autoclavar imediatamente.
9	KH2PO4 K2HPO4	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
10	HIDROCLORETO DE TIAMINA CIANOCOBALAMINA BIOTINA	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada* Congelar em volume adequado*

*As medidas exatas encontram-se disponíveis em: ABNT NBR 12713/2016, p. 21 e 22, tab. B.2.

É necessário usar alguns instrumentos auxiliares para o preparo da solução, tais como: provetas, micropipeta e um agitador. Durante o preparo, é importante que o meio seja homogeneizado entre uma solução e outra para evitar interação química entre as soluções. Para essa homogeneização é possível utilizar um agitador ou uma colher de madeira. A água utilizada no laboratório para preparo de soluções e meios é a ultrapura⁵, todavia, também seria possível utilizar água mineral, após submetê-la a uma série de testes para aprovação.

A manutenção das matrizes é feita de segunda a sexta-feira. Para os lotes recém-abertos, ocorre apenas a limpeza do béquer com uma pipeta e um pipetador de borracha (pêra), fazendo a sucção de todos os vestígios acumulados no fundo do recipiente diariamente. Após observar o surgimento dos primeiros ovos, é o momento de realizar a primeira troca total do meio de cultivo naquele lote.

⁵ A água é purificada por um sistema constituído por carvões ativados e deionizadores. Ao fim desse processo teremos água ultrapura.

Figura 5: Pipeta e pêra



Fonte: autoria própria (2022).

Para as matrizes adultas, realiza-se a troca total uma vez por semana, preferencialmente às segundas-feiras, devido ao acúmulo de resíduos que se forma ao longo da semana, quando há somente troca parcial. Salienta-se que tanto para a troca total quanto para a parcial a quantidade de meio deve ser proporcional a quantidade de daphnias. Para cada 25 organismos, utiliza-se 1 litro de M4. A troca requer os seguintes instrumentos (Figura 6):

- Béquer;
- Rede de aço inox;
- Coletor de aço inox;
- Peneira de pvc;
- Lâmpada;
- Balde;
- Porcelana.

Figura 6: Materiais utilizados durante a troca diária



Fonte: autoria própria, 2022.

O Registro de Qualidade (RQ) é o documento onde são preenchidas todas as informações sobre matriz/lote: data de abertura, dia da troca, troca parcial ou total, identificação de postura⁶, mortes, porcentagem de mortalidade, lote e quantidade da alga oferecida como alimento para os organismos.

⁶ Disposição de ovos por animais.

Para a troca do meio de cultivo nos lotes existem duas formas de proceder: “pescar” uma daphnia por vez, com auxílio do coletor de aço, tirando do béquer contendo o meio sujo e realocando-as no béquer com o meio limpo. A vantagem é a praticidade para realizar a contagem dos organismos vivos dentro do lote, porém, essa técnica só é utilizada para trocas totais de meio (Figura 7). Para trocas parciais, utiliza-se a rede de aço com a peneira; a rede de aço deve ser sobreposta à peneira e, de forma cuidadosa e precisa, o técnico deve verter o conteúdo com as daphnias (Figura 8). Tanto para a troca quanto para a alimentação é importante o auxílio de uma luminária, pois as daphnias são atraídas por fontes de luminosidade. Os organismos adultos ficarão retidos na rede de aço e os neonatos, na peneira.

Figura 7: Técnica de pesca para trocas totais



Fonte: reprodução de autoria própria, 2022.

Figura 8: Técnica de verter para trocas parciais



Fonte: reprodução de autoria própria, 2022.

As matrizes são mantidas por dois meses (ABN, 2016), período após o qual sua reprodutividade diminui e a taxa de mortalidade aumenta drasticamente. Quando o lote chega a essas condições é necessário descartá-lo. Os organismos não podem ser descartados no ambiente, pois não pertencem ao ecossistema brasileiro para realizar o descarte adequado. Portanto, deve-se utilizar um recipiente contendo hipoclorito de sódio.

Como alimento, oferta-se a alga *Desmodesmus subspicatus*, cuja cultura ocorre no próprio laboratório. A qualidade do alimento fará toda diferença à sobrevivência e à reprodução do organismo. Seu cultivo requer elaboração de um meio especial, o CHU (Figuras 9 e 10), que contém nutrientes em quantidades específicas para o cultivo de alga (a Tabela 2 apresenta breve descrição do seu preparo). Este meio conterà todas as soluções necessárias para que a alga se desenvolva de forma saudável. O CHU é composto por dez soluções, e para seu preparo são necessários: água ultrapura, um balde, um bastão de vidro, um pissete contendo água ultrapura, uma proveta e micropipetas. A quantidade em ml variará conforme a quantidade de CHU preparada. É essencial que, após o acréscimo de cada solução, o técnico misture o meio para

evitar interação química. Caso o técnico esqueça de misturar o meio, o processo deve ser completamente reiniciado. Após acrescentadas todas as soluções é necessário medir o potencial hidrogeniônico do CHU, de modo que seu pH deve estar entre 7,0 e 7,2. Caso esteja fora desses parâmetros, é possível ajustá-lo com HCl ou NaOH. Quando o meio está pronto, é o momento de distribuí-lo nos recipientes e autoclavar. Se o procedimento for corretamente desenvolvido, o conteúdo deve sair incolor da autoclave. O meio deve ser armazenado em temperatura entre 4 °C e 10 °C.

Tabela 2: Soluções para preparo do CHU

Solução	Reagente	Quantidade g	Preparo
1	NaNO ₃	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
2	CaCl ₂ .2H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
3	MgSO ₄ .7H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
4	K ₂ HPO ₄	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
5	KH ₂ PO ₄	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
6	NaCl	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
7	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
8	FeSO ₄ .7H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
9	H ₃ BO ₃	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*
10	ZnSO ₄ .7H ₂ O MnCl ₂ .4H ₂ O MoO ₃ CuSO ₄ .5H ₂ O Co(NO ₃).6H ₂ O	Vide NBR 12713	Dissolver e adicionar água processada*

*As medidas exatas encontram-se disponíveis em: ABNT NBR 12713/2016, p. 14 e 25, tab. B.5.

Figura 9. Adição das soluções

Figura 10: Colocação do meio nos recipientes



Fonte: reprodução de autoria própria, 2022.



Fonte: reprodução de autoria própria, 2022.

Várias espécies de algas clorofíceas podem ser oferecidas como alimento para as daphnias, a exemplo da *Desmodesmus subspicatus*, espécie utilizada na alimentação das daphnias deste documento. A cultura da alga acontece em recipientes de vidro que recebam uma aeração contínua, através de um sistema aerador composto por bomba, mangueiras e filtros. O cultivo é mantido sob luminosidade contínua e temperatura ambiente adequada para um crescimento saudável (Figura 11). Para o sucesso e continuidade do cultivo é necessário seguir todos os cuidados e assepsias indicados no POP do laboratório. A cultura de alga também tem RQ próprio.

Figura 11: Cultura de *Desmodesmus subspicatus* (alga)



Fonte: reprodução de autoria própria, 2022.

A quantidade de alimento oferecido aos organismos variará de acordo com a concentração de células algáceas. Para a alimentação, utiliza-se uma micropipeta para auxiliar na distribuição do alimento (Figura 12).

Figura 12: Alimentação



Fonte: reprodução de autoria própria (2022).

4 Teste de toxicidade aguda

Para confiabilidade dos resultados dos testes é imprescindível empregar testes de sensibilidade utilizando uma substância de referência. Esses testes são realizados de forma periódica, num intervalo de 30 dias. A substância de referência é o $ZnSO_4$ (Sulfato de Zinco) em uma amostra pura e diluída, a qual os organismos são expostos durante 48 horas. Após o tempo de exposição acontece a leitura para verificar a quantidade de organismos vivos em suas respectivas diluições. Os resultados são anotados no relatório de ensaio e replicados em um programa que indicará, através da leitura dos resultados, se os organismos estão aptos à realização dos testes. Como indicado na norma ABNT NBR 12713/2016, a partir da segunda postura das daphnias é possível utilizar os neonatos para os testes. Todavia, nesse laboratório, optou-se por utilizar os neonatos somente a partir da terceira postura, desde que a matriz não tenha apresentado mortalidade acima de 20% ou machos. O organismo-teste não pode ter menos que duas horas de vida nem mais que 24 horas (ABNT, NBR n.º 12713/2016).

As amostras recebidas em laboratório provêm dos mais diversos locais, inclusive de acidentes ambientais, quando há derramamento de substâncias químicas em rios. As amostras são entregues ao laboratório em um único volume, que o técnico divide em dois e os armazena a uma temperatura de $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$. O cuidado de replicar a amostra na chegada é devido à necessidade de repetição de teste, pois a amostra só deve ser descongelada no dia em que o teste for executado. Caso os resultados do teste sejam inconsistentes, ainda existirá em armazenamento um volume extra da amostra. Durante o ensaio, os organismos são submetidos à 48 horas de exposição, com uma pré-leitura nas primeiras 24 horas, caso seja necessário repetir o teste.

O laboratório tem seu horário de funcionamento de segunda a sexta-feira, portanto, os testes são realizados todas às terças e quartas-feiras, com leituras nas quintas e sextas-feiras,

respectivamente. Os testes não podem ser realizados nas segundas-feiras, pois os filhotes são provenientes do fim de semana, nem nas sextas-feiras, pois os ensaios duram 48 horas e os resultados teriam que ser lidos no domingo.

Para a realização do teste, o técnico precisará, além de medir os parâmetros iniciais (ph, od e salinidade), observar as características da amostra: turbidez, cheiro e presença de espuma. A observação das características da amostra é importante, pois o técnico terá uma noção de quantas diluições precisará fazer para tentar assegurar a sobrevivência dos organismos em alguma das diluições. Para as diluições, utiliza-se parte do volume da amostra e um volume “x” do meio de diluição.

A seguir, apresentam-se os itens necessários à execução do teste (Figura 13):

Figura 13: Kit realização das diluições



Fonte: autoria própria (2022).

- **Pipeta volumétrica:** utilizada para aferir a amostra e depositá-la no balão volumétrico (Figura 14).
- **Pipeta volumétrica:** contém o meio de diluição.
- **Balão volumétrico:** utilizado para auxiliar nas diluições (Figura 15).
- **Copos pic (recipiente-teste):** utilizados para armazenar a amostra pura/diluída com os organismos durante o teste, lembrando que a utilização desses recipientes requer testes na abertura de cada nova cota de recipiente, para verificar se está adequado e livre de toxinas que interfiram nos ensaios (Figura 16).
- **Coletor de aço inox ou pipeta pequena:** utilizado para coletar os organismos e depositá-los nos copos pic.

- **3 copos beckeres de 50ml:** um deverá conter água ultrapura, outro, o meio de diluição, e um terceiro deve estar vazio para lavagem e despejo de neonatos.
- **Porcelana:** os neonatos aprovados para o teste são colocados na porcelana. Durante a realização do teste o técnico, com auxílio de uma pipeta, colherá os neonatos e aproximará a pipeta da amostra contida no copo pic. Após isto, aguardará até que os organismos se transfiram da pipeta para o recipiente-teste. Para facilitar a atração do organismo, o técnico poderá utilizar uma fonte de luz direcionada à amostra (Figura 17).

Figura 14: Colocação da amostra no balão



Fonte: autoria própria (2022).

Figura 15: Balão sendo aferido com o meio de diluição



Fonte: autoria própria (2022).

Figura 16: Amostras diluídas (duplicatas)



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 17: Neonatos separados para teste



Fonte: Autoria própria (2022).

Os testes são sempre realizados em duplicatas. Cada duplicata receberá 10 neonatos nos recipientes, ou seja, serão 20 organismos para cada diluição. As informações sobre o número da amostra e o número das diluições são anotadas no recipiente-teste. Sempre que um teste é realizado, é necessário fazer o controle, ou seja, expor os organismos à água de diluição. Tal controle também ocorre em duplicata com exposição de 48 horas, como em qualquer outra amostra. Em caso de mortalidade superior a 20% no controle, os testes devem ser refeitos com um novo meio de diluição aprovado. Ao fim das 48 horas de exposição, efetua-se a leitura de cada amostra para verificar os organismos móveis e suas respectivas diluições, de modo que se obtenha o valor de FT (fator de toxicidade). Após essa leitura, verificam-se os parâmetros finais, pH, salinidade e oxigênio dissolvido. Todos os resultados são anotados no registro de qualidade do ensaio.

O fator de toxicidade (FT) será expresso pelo valor do fator de diluição (FD) correspondente, ou seja, quanto mais tóxica uma amostra for, maior será o FT. Uma amostra “limpa” costuma ter como resultado FT1, o que significa que os organismos sobreviveram à exposição na amostra pura. Os resultados obtidos serão encaminhados, com os resultados dos

outros laboratórios, para inserção em um relatório final administrado pelo setor responsável pela aplicação da penalidade à empresa que estiver em desacordo.

5 Considerações finais

Essa pesquisa buscou esclarecer as atividades realizadas em um laboratório de ecotoxicologia para a realização dos testes de toxicidade no controle da poluição dos corpos hídricos. O ecossistema aquático é o que mais recebe contaminantes por lançamentos de efluentes inseridos nos solos ou emitidos no ar. Realizando os biotestes, obtêm-se respostas pelos organismos-teste, de maneira que é possível medir os efeitos das substâncias químicas e determinar quão tóxico está o ambiente aquático. Uma vez identificada, a empresa ou indústria responsável pela emissão de contaminantes nos corpos hídricos pagará multa por danos ao meio ambiente e deverá revisar seus procedimentos para reduzir o despejo do contaminante e preservar à vida aquática.

Glossário de termos

Meio ou água de diluição: água utilizada para preparar as soluções teste e o controle.

Amostra: massa ou volume definido utilizado para o ensaio ecotoxicológico.

Água processada ou ultrapura: água utilizada, com condutividade menor que 10 uS/cm, após tratamento por destilação, deionização ou ultrapurificação.

Controle: reprodução das condições do ensaio sem a presença de amostra só do meio de diluição.

Efípio: espaçamento de coloração escura da câmara de incubação contendo ovos de resistência.

Fator de diluição: número de vezes que a amostra é diluída

Fator de toxicidade: maior concentração da amostra na qual não se observa efeito no organismo-teste. O valor de FT não é calculável e é expresso pelo valor de FD correspondente.

Lote de organismos: grupo de organismos teste de características semelhantes, em relação a espécie, idade/tamanho, gerados a partir de um conjunto de matrizes.

Matriz: grupo de organismos de uma mesma espécie cultivados para gerar lotes de organismos-teste.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 12713**. Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustácea, Cladocera). Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

BRASIL. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/bpl>. Acesso em: 20 set. 2022.

GOMES BETTAS. Blog de curiosidades gerais. Disponível em: <http://gomesbettas.blogspot.com/2013/11/daphnia-comida-viva-para-peixe-de.html>. Acesso em: 20 set. 2022.

INMETRO. Norma n.º NIT-DICLA-034 rev. n.º 04. Aplicação dos Princípios de BPL Estudos de Campo. Aprovada em novembro de 2018. p. 1-12. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/Dicla/NIT/NIT-Dicla-34_03.pdf. Acesso em: 15 set. 2022.

INMETRO. Norma n.º NIT-DICLA-034 rev. n.º 04. Princípios das Boas Práticas de Laboratório. Aprovada em outubro de 2019.

KINIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos — Métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/GTZ, 2004. 289 p.

REGISTRO da Qualidade. *In*: CENTRO DE INFORMAÇÃO METAL MECÂNICA (CIMM). Dicionário. Verbetes. [2020]. Disponível em <https://www.cimm.com.br/portal/verbetes/exibir/1126-registro-da-qualidade#:~:text=Defini%C3%A7%C3%A3o%20%2D%20O%20que%20%C3%A9%20Registro%20da%20Qualidade&text=objeto%20de%20demonstrar%20que%20a,seri%C3%A7%C3%A3o%20depende%20essencialmente%20desta%20condi%C3%A7%C3%A3o>. Acesso em: 15 set. 2022.

SANTIAGO, Thiago. Entenda o que é ecotoxicologia. **Trilho Ambiental**. Belo Horizonte. 10 nov. 2020. Disponível em: <https://www.trilhoambiental.org/post/entenda-o-que-e-ecotoxicologia>. Acesso em: 15 set. 2022.

SAPORITI, R. C. *et al.* **Estudo analítico da bacia hidrográfica do Rio Ribeira por meio de adaptação do método de Avaliação Integrada de Qualidade da Água (AIQA)**. 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Ambiental) — UTFPR, Curitiba, 2009.