

## IV-094 – CONTRIBUIÇÃO DA ANÁLISE DIRECIONADA PELOS EFEITOS BIOLÓGICOS COMO INSTRUMENTO DE MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA ÁGUA DE RIOS

**Fabiana de Cerqueira Martins<sup>(1)</sup>**

Bióloga pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG). Mestranda em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela Escola de Engenharia da UFMG (EE/UFMG).

**Débora Chaves Moraes**

Bióloga pelo ICB/UFMG. Mestranda em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos pela EE/UFMG.

**Valter Lúcio de Pádua**

Engenheiro civil pela EE/UFMG. Mestre e doutor em Hidráulica e Saneamento pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC/USP). Professor adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Escola de Engenharia da UFMG (DESA/EE/UFMG).

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Guajajaras, 629, ap. 701 – Centro – Belo Horizonte - MG – CEP: 30180-100 – Brasil – Tel: (31) 9148-7123 – E-mail: [fab\\_i\\_ecologia@yahoo.com.br](mailto:fab_i_ecologia@yahoo.com.br)

### RESUMO

Frequentemente são lançados no ambiente compostos químicos na forma de misturas complexas, sendo muitos tóxicos, e/ou mutagênicos e genotóxicos, entre os quais muitos ainda são desconhecidos. Assim, análises para determinar apenas compostos químicos conhecidos fornecem informações limitadas sobre o potencial tóxico dessas misturas ao ecossistema e à saúde humana. Nesse sentido, apresenta-se cada vez mais importante uma abordagem de investigação ambiental em que se parte de alterações biológicas em organismos e segue-se buscando as causas desses efeitos, aplicando-se a chamada ADEB. Portanto, este trabalho pretende contribuir para o entendimento e análise da contribuição dessa abordagem no contexto de monitoramento da qualidade da água de rios. Vários trabalhos são confrontados e analisados para esse entendimento, observando-se que várias técnicas podem ser utilizadas e diversos estudos estão sendo desenvolvidos.

**PALAVRAS-CHAVE:** ADEB, monitoramento, qualidade da água de rios, contaminantes-chave, bioensaios.

### INTRODUÇÃO

Os recursos hídricos têm grande significado ecológico, econômico e social. Assim, gerenciar, conservar e recuperar esses sistemas são ações fundamentais com reflexos na economia, na área social e nos usos dos sistemas aquáticos. Essas ações são complexas e dependem, dentre outros fatores, de mecanismos de desenvolvimento e de transferência do conhecimento científico para a aplicação prática. Como há grandes diferenças geomorfológicas, ecológicas e antropológicas nos diferentes locais do mundo, esta ação torna-se evidentemente mais complexa, pois depende de uma base local ou regional de dados e informações científicas compatíveis com os sistemas regionais.

A contínua interferência das atividades humanas nos sistemas aquáticos continentais produz impactos diretos ou indiretos, com consequência para a qualidade da água, a biota aquática e a estrutura e o funcionamento de lagos, rios e represas. Frequentemente são lançados no ambiente compostos químicos na forma de misturas complexas, sendo que muitos são tóxicos e/ou mutagênicos e genotóxicos e muitos são persistentes no ambiente e não há devidos estudos sobre sua toxicidade (KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008; KINANI *et al.*, 2010). Compostos genotóxicos são todos aqueles que lesam o genoma, que é o conjunto do material genético de uma célula. São denominados mutagênicos agentes que induzem à fixação de uma mutação estável no DNA, isto é, alteram de alguma forma a sequência de nucleotídeos que formam o DNA, sendo esta alteração transmitida para futuras gerações celulares. Contaminantes ambientais que modificam o genoma podem tanto atuar no número ou na estrutura dos cromossomos quanto em um único gene. Mutações gênicas, por exemplo, não são detectadas nas gerações em que ocorreram, e somente quando são do tipo dominante é que serão observadas na geração subsequente (VILLELA, 2006).

Além dos próprios compostos originalmente lançados, uma grande variedade de produtos desconhecidos pode ser gerada no próprio ambiente, por processos bióticos e abióticos. Devido a esses fatores, análises químicas realizadas para a determinação apenas dos compostos químicos conhecidos, e para os quais se têm metodologias analíticas padronizadas, fornecem informações limitadas sobre o potencial tóxico dessas misturas ao ecossistema e à saúde humana (BRACK, 2003; KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008).

Portanto, se faz cada vez mais necessária uma abordagem moderna e diferenciada de investigação ambiental, onde se parte de alterações (efeitos) biológicas em organismos e segue-se buscando as causas desses efeitos (BRACK, 2003; GROTE *et al.*, 2005; KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008). Assim, a partir da identificação do problema, são implementados mecanismos para a sua solução. Este método é conhecido como análises químicas direcionadas pelo efeito biológico (ADEB), “*Effect-directed analysis*”, o qual compreende um conjunto de procedimentos desenvolvidos para auxiliar a identificação de compostos orgânicos tóxicos e/ou genotóxicos desconhecidos presentes em misturas complexas ambientais (KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008).

São diversas as técnicas envolvidas na ADEB, desde métodos de extração e/ou “*clean up*”, fracionamento de extratos, passando por bioensaios e análises químicas, o que tem alcançado grande sucesso na identificação de novas classes de contaminantes ambientais (BRACK, 2003; KUMMROW e UMBUZEIRO, 2008). Essa abordagem pode ser utilizada em quaisquer bacias hidrográficas – quando se trata de ambientes aquáticos – e visa principalmente à efetiva melhoria da qualidade ambiental, o que é de suma importância, principalmente nas bacias já impactadas.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho é difundir e avaliar a potencialidade de utilização da estratégia analítica ADEB no monitoramento da qualidade das águas de rios por meio da compilação de artigos nacionais e internacionais sobre o assunto.

## METODOLOGIA

**Base de dados** – Foram consultados diversos artigos, cujo assunto principal era a utilização da ADEB como instrumento de análise de contaminantes, através do Portal CAPES.

**Compilação e análise dos artigos** – Os artigos foram comparados entre si e retiraram-se as principais contribuições de cada um – aspectos abordados, metodologia utilizada, dificuldades, resultados alcançados e conclusões – no contexto da análise de efeitos biológicos a organismos quando submetidos a testes com contaminantes complexos para se encontrar a causa do efeito observado, ou seja, aplicação da ADEB.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

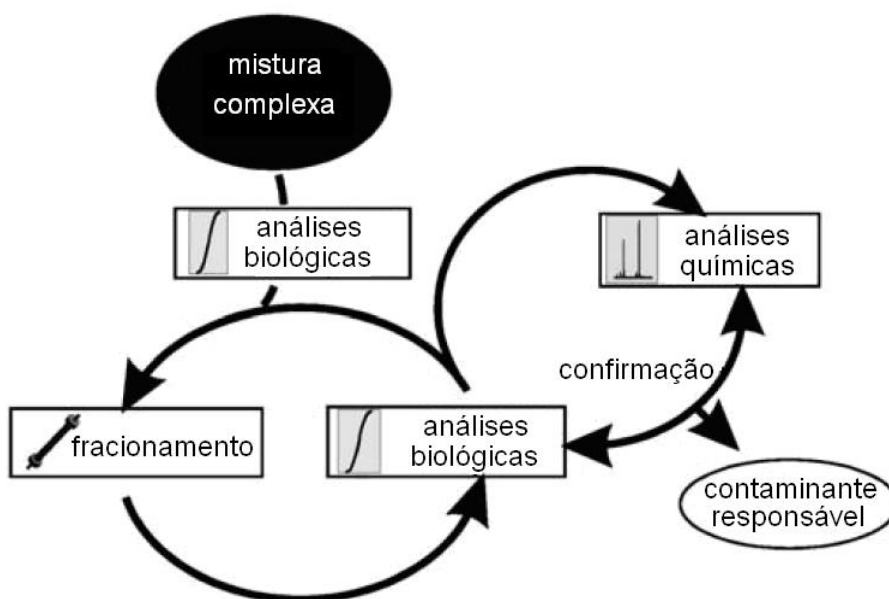
### 1. O processo de análises direcionadas pelo efeito biológico (ADEB)

Uma abordagem geralmente aplicada para a avaliação de risco a respeito de misturas complexas de contaminantes no ambiente é baseada na análise de alvos químicos, por exemplo, de poluentes prioritários, e modelagem de toxicidade, usando dados de toxicidade individual de um determinado composto. No entanto, esta abordagem só tem sentido se os contaminantes-chave não são conhecidos *a priori*. Numerosos estudos que combinam abordagens química e biológica para a avaliação de risco de misturas complexas ambientais indicam que as concentrações de poluentes prioritários não são boas indicadoras de toxicidade. Análises sem alvo de misturas complexas permitem a detecção e identificação de uma ampla gama de compostos, no entanto, são demoradas e não são rotineiramente aplicáveis. Além disso, os resultados são muitas vezes difíceis de avaliar, uma vez que os dados toxicológicos dos compostos identificados estão ausentes (BRACK, 2003).

Como alternativa para essa avaliação de risco, surgiram os biotestes como estratégias de avaliação dos efeitos de compostos tóxicos encontrados no ambiente. Porém, conforme explicita Brack (2003), sua aplicação isolada não é suficiente para fornecer informações sobre os compostos que realmente causam os efeitos medidos e não constitui uma base suficiente para tomada de medidas de redução do risco, tais como correção ou controle de emissões. Assim, na década de 1980 pesquisadores desenvolveram uma nova abordagem denominada de bioensaio ou análises químicas direcionadas pelos efeitos biológicos (ADEB), do inglês “*Effect-directed analysis*” (EDA). Desde então, esta técnica vem sendo cada vez mais utilizada e aprimorada para a

identificação de partículas tóxicas de material particulado do ar, solos, sedimentos, efluentes, águas superficiais e subterrâneas.

A ADEB objetiva identificar as causas químicas de efeitos biológicos mensuráveis, estabelecendo uma relação de causa e efeito através de bioensaios e análises químicas sequenciais (Figura 1). Especificamente, uma amostra complexa (por exemplo, sedimentos, ar, partículas em suspensão, ou extrato de solo) é analisada através de um bioensaio (para questões específicas, tais como a caracterização de substâncias químicas de dioxina) ou uma combinação de múltiplos bioensaios que representam os diferentes modos de ação biológica. Paralelamente à avaliação dos efeitos em determinados processos biológicos, a toxicidade geral de uma amostra (por exemplo, bioensaio de citotoxicidade para células), que poderia mascarar uma resposta específica, é avaliada. Se a amostra foi identificada como tendo uma atividade biológica significativamente alterada, ela será, então, submetida ao fracionamento, separando os produtos químicos nela contidos por polaridade, peso molecular ou qualquer outra propriedade físico-química ou suas combinações. Então, essas frações são novamente analisadas pelo seu potencial para interferir em processos biológicos utilizando bioensaios agudo e mecanismo-específico. Este procedimento é repetido até que a atividade possa ser localizada por uma ou várias frações específicas que contenham produtos químicos com propriedades particulares. Em seguida, essas frações são submetidas a análises químicas para compostos suspeitos. Posteriormente, em uma análise do balanço de massa, é avaliado se uma fração quimicamente determinada pode explicar as respostas biológicas observadas no bioensaio. Estimativas do balanço de massa de todos os compostos que mais contribuem para os efeitos observados podem ser calculados para elucidar se toda a atividade foi identificada, e para avaliar o potencial para interações, como sinergia ou antagonismo, entre os contaminantes presentes nas misturas complexas. Por fim, uma etapa de confirmação avalia o quanto da toxicidade observada na amostra ambiental pode ser atribuído à mistura de substâncias tóxicas identificadas (BRACK, 2003; HECKER e HOLLERT, 2009).



**Figura 1:** Esquema da identificação de contaminantes pela abordagem de análises direcionadas pelos efeitos biológicos (ADEB). Fonte: Adaptado de Brack (2003).

## 2. Técnicas para execução da ADEB

Dentre as possíveis técnicas para realização da ADEB, para avaliação de misturas complexas, como o ar, o solo, a água, os sedimentos e os efluentes domésticos e industriais, são destacadas a seguir as principais utilizadas pelos autores dos artigos pesquisados.

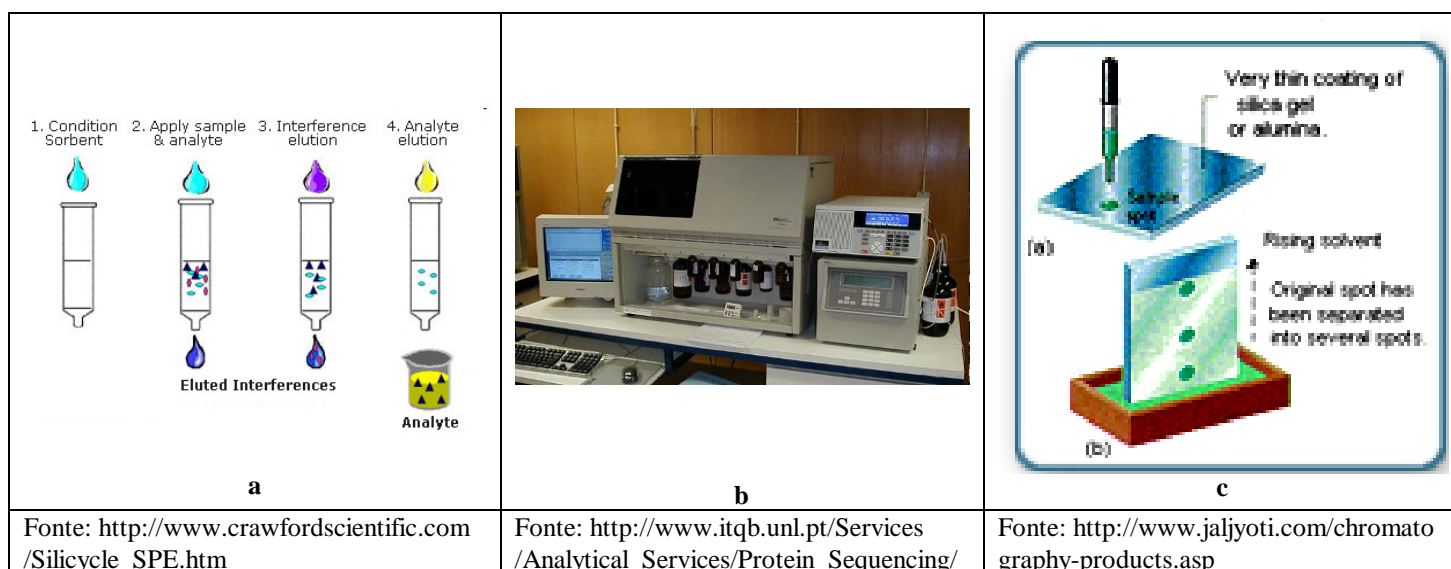
### 2.1 Técnicas de extração/clean up

A intenção dessa etapa é separar os compostos/poluentes tóxicos – predominantemente hidrofílicos em amostras de água e lipofílicos em amostras sólidas – da matriz complexa da qual faz parte (ar, água, solo,

sedimento). Para amostras aquosas existem as seguintes técnicas: extração líquido/líquido; extração em fase sólida (SPE) – resinas C18 e XAD; extração por membranas semi-permeáveis (SPMDs); extração em fase sólida sequencial; *blue rayon*, *blue cotton* e *blue chitin*. Enquanto para amostras sólidas as técnicas são: extração por ultrassom; extração em Soxhlet; extração sequencial por ultrassom e Soxhlet; extração acelerada com solventes.

## 2.2 Fracionamento de extratos

Tem como objetivo a redução sequencial da complexidade das misturas através da eliminação dos compostos não tóxicos, a fim de permitir uma identificação química dos tóxicos restantes. Os procedimentos de fracionamento podem ser baseados em propriedades físico-químicas dos agentes tóxicos como: polaridade, hidrofobicidade, tamanho molecular, planaridade da molécula, presença de grupamentos funcionais específicos. Para amostras aquosas são aplicadas as seguintes técnicas: extração em fase sólida (SPE) – C18 e XAD; eluição; cromatografia líquida de alto desempenho com fase reversa (RP-HPLC – *reversed-phase high-performance liquid chromatography*); extração líquido/líquido; cromatografia em camada fina (TLC – *thin-layer chromatography*); liofilização com fracionamento posterior de acordo com o tamanho molecular por ultrafiltração e/ou cromatografia por exclusão de tamanho. Enquanto que para amostras sólidas existem as técnicas: cromatografia de fase normal; partição líquido/líquido de fase aquosa de compostos ácidos, básicos e neutros; cromatografia por exclusão de tamanho; RP-HPLC; cromatografia elétron-doador-receptor. Exemplos de técnicas e equipamentos de fracionamento de extratos estão apresentados na Figura 2.



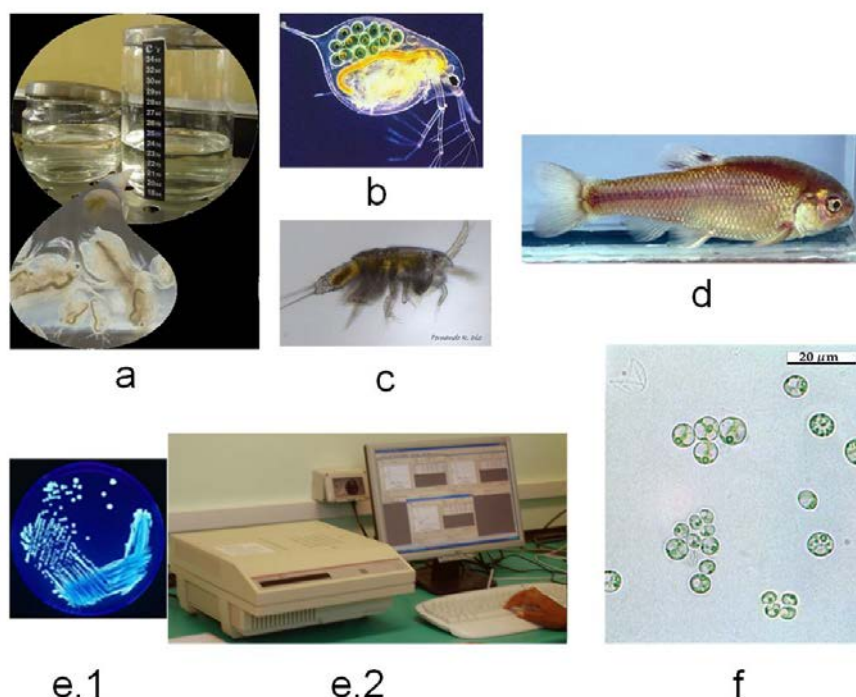
**Figura 2: Exemplos de técnicas e equipamentos de fracionamento de extratos: (a) SPE, (b) RP-HPLC e (c) TLC.**

## 2.3 Bioensaio

A toxicidade da amostra e das frações observada através dos bioensaios orienta as etapas de fracionamento e as análises químicas. Os bioensaios podem ser utilizados com dois enfoques: como detector de substâncias e frações tóxicas e/ou para avaliação dos riscos ambientais, o que orienta os critérios para seleção do melhor bioteste. No que se refere à mera detecção biológica de tóxicos, os principais critérios para seleção do bioteste são rapidez, baixo consumo de extrato/fração, mas também a reprodutibilidade, a sensibilidade, a capacidade de fornecer resultados quantitativos e o poder de discriminar frações tóxicas e não tóxicas. Com relação à avaliação dos riscos, é necessário que o bioteste tenha uma capacidade de detectar efeitos agudos e crônicos relevantes para organismos considerados relevantes ao serem expostos a doses baixas do poluente quando se avalia um ecossistema específico (BRACK, 2003).

Para isso, os biotestes mais utilizados são: (1) para análise de toxicidade aquática – testes com invertebrados, como os microcrustáceos *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *Ceriodaphnia dubia* e o copépodo *Tisbe battagliai*

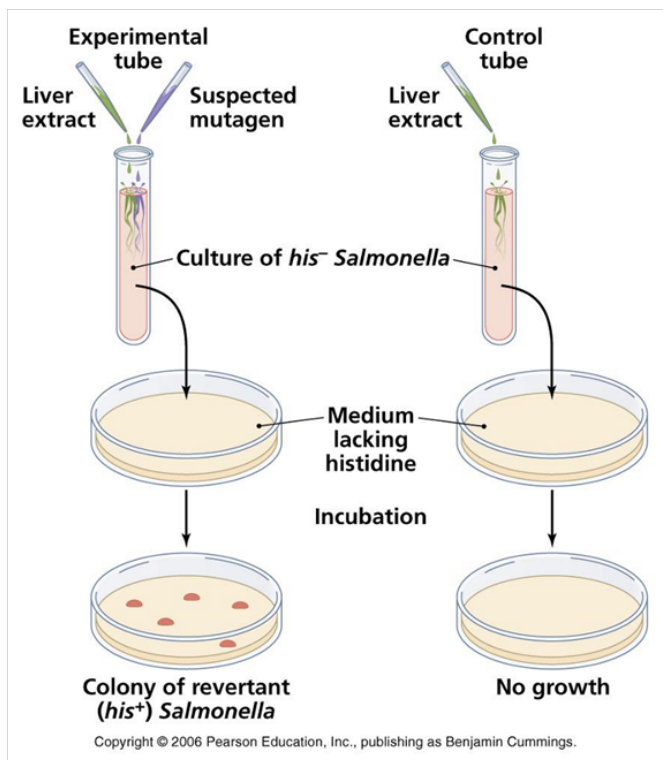
(Figura 3a, b, c); com o peixe *Pimephales promelas* (Figura 3d); teste de inibição da bioluminescência da bactéria marinha *Vibrio fischeri* (Figura 3e); ensaio com embriões de ostras *Crassostrea gigas*; testes de toxicidade aguda com o copépodo marinho *Tisbe battagliai*; teste de inibição da multiplicação celular da alga verde *Scenedesmus vacuolatus* (Figura 3f); ensaio de teratogênese em embriões de rã com *Xenopus laevis* (FETAX); o teste de embriões de peixe com ovos de *Salmo trutta* e *Oryzias latipes*; (2) para análise de genotoxicidade e mutagenicidade – ensaio com *Salmonella*/microsoma (teste de Ames) (Figura 4); teste umu (ativação do sistema de reparo de DNA em *Salmonella typhimurium*); ensaio Mutatox, utilizando uma estirpe mutante de *Vibrio fischeri*; ensaios com células humanas B-linfoblastóide das linhagens MCL3 e h1A1v2; ensaios *in vivo* com a truta arco-íris; (3) além de testes específicos para análises de inibição de enzimas ou produção de efeitos endócrinos, que podem ser realizados com organismos ou cultura de células.



Fontes: (a) <http://ilovedafnia.blogs.sapo.pt/>; (b) [http://aquariumbg.com/show\\_item\\_pic.php?name=Ceriodaphnia%20dubia&pict=Ceriodaphnia\\_dubia\\_1.jpg&root\\_dir=food/](http://aquariumbg.com/show_item_pic.php?name=Ceriodaphnia%20dubia&pict=Ceriodaphnia_dubia_1.jpg&root_dir=food/); (c) <http://www.fotonatura.org/galerias/general/165312/>; (d) [http://www.mblaquaculture.com/content/organisms/pimephales\\_promelas.php](http://www.mblaquaculture.com/content/organisms/pimephales_promelas.php); (e.1) [http://umwelt-sc.com.br/site/areas\\_laboratorios.php](http://umwelt-sc.com.br/site/areas_laboratorios.php); (e.2) <http://www.upc.edu/etp/noticias.htm>; (f) [http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Cultivos/microalgas/Scenedesmus\\_vacuolatus.jpg](http://www.ibvf.cartuja.csic.es/Cultivos/microalgas/Scenedesmus_vacuolatus.jpg)

**Figura 3: Exemplos de organismos utilizados em biotestes para análise de toxicidade aquática: (a) Microcrustáceo *Daphnia magna*; (b) Microcrustáceo *Ceriodaphnia dubia*; (c) Copépodo *Tisbe battagliai*; (d) Peixe *Pimephales promelas*; (e.1) Bactéria marinha *Vibrio fischeri*, (e.2) Sistema Microtox para análise da luminescência *Vibrio fischeri*; (f) Alga verde *Scenedesmus vacuolatus***





Fonte: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%207/idmutants.html>

**Figura 4: Teste de Ames para análise de genotoxicidade e mutagenicidade.**

## 2.4 Análises químicas

Esta etapa procura identificar os compostos químicos extraídos e fracionados das amostras complexas. As seguintes técnicas podem ser aplicadas: cromatografia gasosa acoplada a espectrofotômetro de massa (GC/MS – *gas chromatography with mass spectrometry*); métodos espectroscópicos; espectroscópio de ressonância magnética nuclear; espectro de absorção de radiação ultravioleta ou infravermelha após a separação por HPLC; cromatografia líquida acoplada a espectrofotômetro de massa (LC-MS – *liquid chromatography coupled to mass spectrometry*) com ionização química à pressão atmosférica (APCI) e ionização por eletrospray (ESI).

## 3. Aplicações atuais da ADEB e suas limitações e sua aplicação no monitoramento da qualidade da água de rios

Hecker e Hollert (2009) discutem em seu trabalho diversas aplicações da ADEB realizadas por diferentes pesquisadores ao redor do mundo que avaliaram a exposição ambiental a diferentes grupos químicos, como compostos genotóxicos ou estrogênicos. Os autores citam, por exemplo, que é comum a realização de bioensaios com a linha celular H4IIE de hepatoma de rato ou indução EROD em células RTL-W1 para avaliar a exposição a substâncias químicas semelhantes à dioxina que se ligam ao receptor de hidrocarboneto aromático (Ahr – *aryl hydrocarbon receptor*). No entanto, também ressaltam, que muitas vezes os equivalentes semelhantes à dioxina detectados quimicamente não podem explicar a atividade biológica medida com o bioensaio. Da mesma forma, os pesquisadores chamam atenção para o fato de que as tentativas de correlacionar genotoxicidade de amostras ambientais complexas medidas por testes como o Ames, o micronúcleo, ou o teste do cometa com concentrações de PAH muitas vezes falharam, sugerindo uma contribuição de outros mutagênicos não-regulados para o efeito biológico observado. Também é citado o fato de que tem se intensificado os estudos sobre compostos com efeitos estrogênicos.

Sobre estes tópicos, o trabalho de Brack *et al.* (2007) é um importante exemplo. Nele são apresentados estudos realizados para relacionar a poluição química nos rios europeus com efeitos ecotoxicológicos. Os estudos focaram na genotoxicidade e mutagenicidade dos compostos, efeitos mediados por receptores de hidrocarbonetos aromáticos, perturbação endócrina causada pelos contaminantes e testes de toxicidade com

bactéria luminescente, algas verdes e invertebrados. Os compostos que foram identificados como contaminantes-chave em diferentes locais das bacias hidrográficas europeias em estudos enfocando as relações de causa-efeito entre a contaminação química e efeitos biológicos foram discriminados e comparados com a lista de poluentes prioritários previstos pela Comissão Europeia. Muitos daqueles que foram identificados como causadores do efeito biológico não eram considerados como poluentes prioritários na lista da Comissão. Isso enfatiza a importância da realização da ADEB como um estudo mais preciso da contaminação de um ambiente e seu real efeito no ecossistema como um todo.

Outros trabalhos também utilizaram a ADEB para estudar, direta ou indiretamente, a qualidade da água de rios: Bandow *et al.* (2009) apresentaram um estudo completo de ADEB para amostras de sedimento no rio Elba (República Tcheca/Alemanha), tendo encontrado compostos como bifenóis policlorados (PCBs), naftalenos, dibenzo-*p*-dioxinas (PCDDs), furanos e hidrocarbonetos poliaromáticos (PAHs); Brack (2003) realizou uma compilação e discussão sobre os principais métodos integrantes de uma ADEB e, ao fim, estabeleceu critérios para a aplicação bem sucedida dessa ferramenta promissora: a seleção de objetos indicativos da investigação e requerimentos metodológicos; Grote *et al.* (2005) analisaram sedimentos de um local de água doce, na Alemanha, e outro de água marinha, na Suécia, com o objetivo de melhorar a metodologia de ADEB ao incorporar conhecimentos disponíveis sobre a previsibilidade dos efeitos combinados de misturas; Kinani *et al.* (2010) apresentaram os resultados de uma avaliação da contaminação por químicos com efeitos endócrinos dos sedimentos de cinco rios franceses: dois preservados e três impactados; Liebig *et al.* (2008) testaram a toxicidade de dois pesticidas, monitorados no rio Elbe, na Alemanha; Hewitt e Marvin (2005) delinearam uma revisão da literatura examinando as abordagens analíticas utilizadas para identificar compostos mutagênicos, bem como outras substâncias biologicamente ativas em efluentes.

No contexto brasileiro, tal técnica pode ser acoplada aos ensaios ecotoxicológicos na adequação dos parâmetros mencionados na Resolução CONAMA 357/05 (a qual dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências) (CONAMA, 2005), tendo em vista as especificidades climáticas e da fauna e flora brasileira. Logo, para medir o efeito sobre a biota do corpo receptor, os ensaios ecotoxicológicos podem ser realizados com o intuito de identificar interações entre substâncias e possíveis contaminantes que podem causar danos aos seres vivos e verificar efeitos tóxicos crônicos/agudos a organismos, atendendo ao Capítulo III, Artigo 8º., Parágrafo 4º e Artigos 14, 16, 18, 19, 21 e 22, item I.a, da Resolução. Produtos químicos, amostras de água e sedimento coletadas em corpos receptores (rio, lago, mar), efluentes industriais tratados e não tratados, água intersticial e elutriado podem ser avaliados, atendendo ao Capítulo IV, Artigo 34, Parágrafo 1º., da Resolução. Após a realização dos testes, o efluente é classificado como doce, salobro ou salino e o grau do efeito tóxico aos organismos é classificado como crônico ou agudo (APLYSIA, 2010). Nos ensaios que identificam o efeito agudo, os organismos-teste geralmente apresentam mortalidade e/ou imobilidade, devido à exposição a altas concentrações durante curtos períodos de tempo. Enquanto nos ensaios sobre efeito crônico os organismos-teste têm crescimento inibido ou limitação da postura de ovos, devido à exposição a baixas concentrações do poluente durante longos períodos de tempo.

Sabendo-se disso, percebe-se o potencial de aplicação da ADEB nos estudos de monitoramento da qualidade da água de rios e sua utilização para melhor gerenciamento do sistema com intuito de promover e manter a estrutura, o funcionamento e a integridade ecológica dos ecossistemas fluviais.

## CONCLUSÕES

A exploração dos recursos hídricos para produção de energia, biomassa e irrigação e suprimento da água para a população deve ser consciente e sustentável e, por isso, demanda uma forte articulação entre a base de pesquisa e o conhecimento científico acumulado e as ações de gerenciamento e engenharia. Sem esta articulação que leve em conta qualidade e quantidade de água, muito pouco avanço conceitual pode ser realizado. Além disso, é preciso levar em conta não somente o sistema aquático (agentes abióticos e bióticos), mas a bacia hidrográfica na qual ele se insere e os usos desta. Sem este conceito há pouca probabilidade de um gerenciamento efetivo do sistema e de um melhor entendimento sobre sua estrutura e funcionamento.

Nesse sentido, o monitoramento da qualidade dos rios mostra-se cada vez mais importante no que concerne à garantia da integridade do ecossistema como um todo, do espaço em que se insere e do qual faz parte e das funções a que se destina para a população humana. O controle simples e puro de parâmetros físico-químicos

fornece um panorama pontual da qualidade da água do rio, não sendo suficiente para auxiliar em projetos eficientes de proteção e/ou recuperação do sistema, porém, a utilização conjunta com bioensaios dá-nos uma visão mais ampla da saúde do ambiente não só naquele momento, mas em um período determinado, apresentando-se como uma abordagem mais adequada para se gerenciar eficaz e efetivamente todo o ecossistema fluvial.

Por isso, se faz cada vez mais importante a realização de estudos que acrescentem e demonstrem a aplicabilidade da ADEB para a avaliação do risco de diferentes contaminantes ambientais, principalmente nos ecossistemas fluviais, que são os ambientes mais afetados pela descarga de poluentes provenientes das atividades humanas, sejam elas domésticas ou industriais. No entanto, é preciso considerar a ADEB apenas como uma das ferramentas para esse fim, sendo importante delinear claramente os objetivos do monitoramento e observar os requisitos metodológicos – materiais e pessoal necessário para realização das análises.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo auxílio financeiro para participação no Congresso, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de mestrado concedidas às autoras e à Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES) pela oportunidade de divulgação do trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APLYSIA, Blog da (2010). Resolução CONAMA 357 e os ensaios ecotoxicológicos. 28 de outubro de 2010. Disponível em: <<http://aplysia.com.br/blog/28-10-2010/resolucao-conama-357-e-ensaios-ecotoxicologicos/>>. Acesso em 04 de dezembro de 2010.
2. BANDOW, N.; ALTENBURGER, R.; VAREL, U. L.-V.; PASCHKE, A.; STRECK, G.; BRACK, W. (2009). Partitioning-based dosing: an approach to include bioavailability in the effect-directed analysis of contaminated sediment samples. *Environmental Science and Technology*, v. 43, n. 10, p. 3891–3896.
3. BRACK, W. (2003). Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 377, n. 3, p. 397–407.
4. BRACK, W.; KLAMER, H. J.C.; ALDA, M. L.; BARCELÓ, D. (2007). Effect-directed analysis of key toxicants in European river basins. A review. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 14, n. 1, p. 30–38.
5. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). (2005). Resolução nº. 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*. Brasília: CONAMA.
6. GROTE, M.; BRACK, W.; WALTER, H. A.; ALTENBURGER, R. (2005). Confirmation of cause-effect relationships using effect-directed analysis for complex environmental samples. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 24, n. 6, p. 1420–1427.
7. HECKER, M.; HOLLERT, H. (2009). Effect-directed analysis (EDA) in aquatic ecotoxicology: state of the art and future challenges. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 16, n. 6, p. 607–613.
8. HEWITT, L. M.; MARVIN, C. H. (2005). Analytical methods in environmental effects-directed investigations of effluents. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 589, n. 3, p. 208–232.
9. KINANI, S.; BOUCHONNET, S.; CREUSOT, N.; BOURCIER, S.; BALAGUER, P.; PORCHER, J.-M.; AÏT-AÏSSA, S. (2010). Bioanalytical characterisation of multiple endocrine- and dioxin-like activities in sediments from reference and impacted small rivers. *Environmental Pollution*, v. 158, n. 1, p. 74–83.
10. KUMMROW, F.; UMBUZEIRO, G. A. (2008). 2-fenilbenzotriazóis (PBTA): uma nova classe de contaminantes ambientais. *Química Nova*, v. 31, n. 2, p. 401–406.
11. LIEBIG, M.; SCHMIDT, G.; BONTJE, D.; KOOI, B. W.; STRECK, G.; TRAUNSPURGER, W.; KNACKER, T. (2008). Direct and indirect effects of pollutants on algae and algivorous ciliates in an aquatic indoor microcosm. *Aquatic Toxicology*, v. 88, n. 2, p. 102–110.
12. VILLELA, I. V. (2006). *Avaliação do potencial genotóxico de amostras ambientais da região hidrográfica da bacia do lago Guaíba*. 2006. 153 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Centro de Biotecnologia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre.