



VI-274 - AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA EM SEDIMENTO DE MANGUE DE VITÓRIA (ES) CONTAMINADO POR HIDROCARBONETOS DE PETRÓLEO

Ariana Iochie Moraes Arimura⁽¹⁾

Tecnóloga em Saneamento Ambiental pelo Centro Federal de Educação Tecnológica do Espírito Santo (CEFET-ES) e Bióloga pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Pedro Assis Ribeiro de Castro

Biólogo pela Universidade Santa Úrsula (USU). Mestrando em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

Sérvio Túlio Alves Cassini

Professor Associado do Departamento de Engenharia Ambiental da Universidade do Espírito Santo (UFES).

Endereço⁽¹⁾: Rua Victório Humberto Merlo, nº 03, Q16 – São Diogo I - Serra - ES - CEP: 29.163-240 - Brasil - Tel: (27) 8817-4128 - e-mail: yoshiearimura@yahoo.com.br

RESUMO

A intensificação da atividade petrolífera no Brasil e no estado do Espírito Santo torna as regiões em que essas atividades se desenvolvem mais susceptíveis a acidentes envolvendo óleo. Esse fato gera uma demanda pela identificação dos ambientes que prioritariamente devem ser protegidos, onde devem ser aplicados ou concentrados esforços em casos acidentais/emergenciais. O manguezal, pelas suas características peculiares, é considerado um ambiente muito sensível ao derramamento de óleo, além de possuir grande importância para a manutenção da vida marinha. O presente trabalho tem como área de atuação o manguezal na Baía do município de Vitória, Espírito Santo, no ponto de latitude 20°16'39.19"S e longitude 40°18'38.12"W. O sedimento de manguezal provavelmente encontra-se com traços de poluentes provenientes do esgoto doméstico, uma vez que foi possível observar uma inibição inicial que foi eliminada a partir do segundo teste. O petróleo bruto apresentou inibição quando comparado com o controle, contudo os números oscilaram de forma considerável. Foi possível observar a colonização por microorganismos degradadores no petróleo bruto, o mesmo não foi observado nas frações mais leves, em que o hidrocarboneto se apresentava mais homogeneizado ao líquido. As frações mais leves (F12 e F6) apresentaram valores significativos de inibição até o final do experimento, mostrando-se como as frações mais tóxicas à alga, fato este passível de ser explicado pela emulsificação desses hidrocarbonetos. A fração F2 apresentou-se altamente tóxica no início do experimento, contudo rapidamente sua toxicidade reduziu, indicando uma possível perda por volatilização. A alga *Skeletonema costatum* mostrou-se sensível às diferentes frações de hidrocarbonetos de petróleo, contudo não foi possível observar até que ponto as frações mais leves ainda apresentariam toxicidade, sendo necessário um teste com maior extensão.

PALAVRAS-CHAVE: Petróleo, Ecotoxicidade, *Skeletonema costatum*, Degradação ambiental, Atenuação natural.

INTRODUÇÃO

Segundo Lacerda (1984), os manguezais fornecem às águas costeiras grandes quantidades de detritos orgânicos que servem de base às cadeias alimentares; são berçários da vida marinha; protegem a linha de costa e a margem dos estuários contra a erosão; protegem as áreas ribeirinhas contra as enchentes; servem de refúgio para várias espécies animais ameaçadas de extinção como aves marinhas, répteis e mamíferos; geram recursos naturais primários para as populações locais através da exploração de sua fauna e de sua flora.

Estes ecossistemas são altamente complexos e produtivos, dentre os grupos de organismos que habitam as zonas estuarinas, destaca-se o fitoplâncton, principal produtor primário dos oceanos e estuários, representado por um conjunto de microalgas que se desenvolvem na zona eufótica (Saenger, et al, 1983). Segundo Koenig (1997), variações na composição do fitoplâncton, e as diversas associações espaços-temporais constituem uma resposta rápida às modificações das condições ambientais. Devido à velocidade das repostas desta comunidade às variações ambientais, estes organismos podem ser indicadores das mudanças que vêm ocorrendo nos ambientes aquáticos, onde também se encontra as zonas estuarinas. O fitoplâncton possui um



importante papel na manutenção da cadeia trófica servindo de alimento para diferentes espécies de organismos zooplancônicos.

Entretanto, com o advento da indústria petrolífera, as regiões estão sujeitas a acidentes envolvendo óleo, o que gera uma demanda pela identificação dos ambientes que prioritariamente devem ser protegidos, onde devem ser aplicados ou concentrados esforços em casos acidentais/emergenciais. O manguezal, pelas suas características é considerado um ambiente muito sensível ao derramamento de óleo.

A ecotoxicologia vem estudando o comportamento e as transformações de agentes químicos no ambiente, assim como seus efeitos e respostas sobre a biota. De acordo com Sinderman et al (1996), as respostas da biota aos poluentes são distribuídas no tempo, algumas ocorrendo imediatamente após o evento poluidor ou respondendo a um estímulo que continua por longo tempo. Portanto, os estudos ecotoxicológicos com sedimentos e utilizando produtores primários de zonas estuarinas pretendem fornecer subsídios para tomada de decisões.

O presente trabalho visa avaliar a atenuação da ecotoxicidade em solo de mangue contaminado por hidrocarbonetos de petróleo e analisar o uso da alga *Skeletonema costatum* como indicador do impacto ocasionada por derramamentos de petróleo à cadeia trófica de regiões estuarinas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta para o estudo foi realizada na área de manguezal da Baía de Vitória, Espírito Santo, no ponto de latitude 20°16'39.19"S e longitude 40°18'38.12"W.

PROTÓTIPO PARA SIMULAÇÃO DA ATENUAÇÃO NATURAL *EX SITU*

O protótipo montado para a simulação da atenuação natural foi contaminado por distintos hidrocarbonetos, que são apresentados a seguir:

Tabela1: Caracterização físico-química do petróleo bruto.

Petróleo 16,9°API (AM 736)	
Densidade a 20°C	0,9496
Viscosidade a 40°C	524,66
Sal (ppm)	862,099
Ácido (mgKOH/g amostra)	2,9203

Tabela 2: Caracterização físico-química das frações provenientes do petróleo bruto

Frações do Petróleo 16,9°API (AM 736)						
Código	Fração	Densidade a 20°C (g/cm³)	°API a 20°C	Viscosidade a 20°C (cm³/s)	Teor de enxofre 10 ⁻⁴ (%m/m)	Ponto de Destilação (°C)
FD5	2	0,8184	40,6	1,5391	388,86	164-207
FD7	6	0,8835	28	9,2932	2324,812	288-300
FD2	12	0,9342	19,4	232,25	4367,612	388-400

Os hidrocarbonetos de petróleo (Tabelas), foram gentilmente doados pelo Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de metodologias para Análises de Petróleo/Departamento de Química da Universidade Federal do Espírito Santo (LABPETRO/DQUI-UFES), com as devidas caracterizações físico-químicas.

O Petróleo Bruto (tabela) foi caracterizado como um óleo pesado, porque de acordo com a escala formalizada pelo Instituto Americano de Petróleo (API), este apresentou um grau API abaixo de 20°API, ou seja 16,9°API. A caracterização também foi realizada quanto à viscosidade, salinidade e acidez. Já as frações (Tabela), são provenientes do mesmo petróleo bruto 16,9°API, extraídas por pontos de destilação diferentes,



que são determinados pela temperatura. Cada fração apresenta aspectos bem particulares, que vão dos resultados físico-químicos exatos à textura visual e olfativa. Com estas informações, é possível comparar e aproximar as frações a produtos comercializados derivados de petróleo, que passam por processos semelhantes para serem produzidos. Há uma relação entre os resultados físico-químicos das frações, como o °API, pois quanto maior é o valor apresentado deste, menor são os valores da densidade, viscosidade, teor de enxofre e ponto de destilação, que também se correlacionam.

A fração 2 (FD5), se caracteriza por ser leve, apresentar o grau API acima de 30, no caso 40,6°API. Assim como nas demais frações apresentam os valores de sua viscosidade, densidade e teor de enxofre, elevados, consequentemente inversos ao API. Seu ponto de destilação se assemelha ao querosene. Além do mais as características visuais também se aproximam ao querosene, por não apresentar cor e ter um cheiro semelhante e que pode ser sentido a uma distância maior que as demais frações, devido à alta volatilidade. Com estas caracterizações, é bem provável que esta fração tenha em sua composição um teor alto de hidrocarbonetos aromáticos.

A fração 6 (FD7) é um óleo médio, por apresentar o grau API entre 20 e 30, ou seja 28°API. Este apresentou o ponto de destilação mais próximo ao diesel, apesar de sua cor não ser semelhante ao diesel, um azul quase roxo. Fração 12 (FD2) é um óleo pesado, por estar na faixa de 10 a 20 °API, exatamente 19,4 °API. O ponto de destilação apresentou-se na faixa do derivado de petróleo óleo lubrificante (388-400). Isso se confirma também pelo aspecto denso e pela cor amarelada escura.

SISTEMA LATA/PET

O protótipo buscou simular não só o derrame dos hidrocarbonetos no sedimento, mas condições vitais para a manutenção da microbiota de manguezal, que também respondem significativamente na atenuação natural através da biodegradação, adequando e adaptando o microambiente, dando as condições similares das encontradas no manguezal como saturação da água no sedimento, consequentemente a anaerobiose, pH ácido, salinidade e temperatura.

Os materiais utilizados neste sistema foram todos reciclados; garrafas pet de 2L e latas de refrigerante de 350ml. As garrafas pets foram cortadas pela metade e nas latas retiradas a sua parte superior. Ao fundo de cada lata foi feito um pequeno orifício e afundadas de dentro para fora, seguido de uma tira de filtro de celulose na parte externa no orifício, para evitar a perda de material. Com o material pronto, estes foram preenchidos em cada lata com 100g de sedimento de manguezal para os controles, nos demais recipientes, foram preenchidos com 95g de sedimento de manguezal e mais 5g com seus respectivos hidrocarbonetos de petróleo, resultando em cinco destas latas de refrigerante. Em seguida, estas latas foram colocadas dentro da meia garrafa pet com água destilada tendo seu nível um pouco acima da encontrada à superfície do sedimento na lata, com o objetivo de manter a pressão para saturação do sedimento, como encontrada no mangue. Este sistema ficou exposto ao ar livre, sombreado, numa bancada situada na Estação de Tratamento de Esgoto – ETE/UFES. Lugar próximo ao de coleta do sedimento.

ECOTOXICOLOGIA COM *Skeletonema costatum*

As amostras foram retiradas com um dia de antecedência do Freezer a – 80°C para descongelamento total das mesmas. O sedimento de cada amostra foi homogeneizado e pesado.

- 1º) Foi pesado em um erlenmeyer de 250 mL, 43,75g de sedimento e adicionado 175 mL de meio Guillard (Quadro 2);
- 2º) Ficou sob agitação no shaker a temperatura ambiente por 30 min;
- 3º) Amostra decantou por uma hora;
- 4º) Transferiu-se o sobrenadante para os tubos tipo Falcon de 50 mL;
- 5º) Este foi centrifugado a 3.000 rpm por 30 min a temperatura ambiente;
- 6º) O sobrenadante foi filtrado sob pressão com microfiltro de fibra de vidro de 0,45 µm;
- 7º) Mediu-se a turbidez, a qual deve ser de no máximo 50 NTU (Unidades Nefelométrica de Turbidez) (importante nos ensaios com bactérias luminescentes);
- 8º) Em poucos casos que o valor da turbidez apresentou-se acima de 50 NTU após a filtração, este foi centrifugado mais uma vez nas mesmas condições da primeira e em seguida foi medida a turbidez novamente;
- 9º) O pH foi medido e ajustado para $8,0 \pm 0,5$ (para que estivesse em condições dos dois testes)



A *Skeletonema costatum*, são algas diatomáceas usadas em testes de ecotoxicologia. Estas são expostas a efluentes, neste caso ao solubilizado do sedimento de manguezal, onde foi observado o crescimento da biomassa. Por se tratar, de um ciclo completo da vida, este é um teste crônico com durabilidade de no máximo 96 horas (quatro dias). Neste caso do projeto, têm uma representatividade ecológica muito boa, não apenas pelo fato de ser representante da produção primária, fitoplâncton, mas por esta espécie também ser bem comum aos estuários (ISO 10253,1995).

Tabela 3: Concentrações das soluções nutrientes em solução estoque e em solução teste.

Nutriente	Concentração em solução estoque	Concentração Final em solução teste
Solução Estoque 1 (10 L)		
FeCl ₃ .6H ₂ O	48 mg/l	149 µg/l (Fe)
MnCl ₂ .4H ₂ O	144 mg/l	605 µg/l (Mn)
ZnSO ₄ .7H ₂ O	45 mg/l	150 µg/l (Zn)
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,157 mg/l	0,6 µg/l (Cu)
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,404 mg/l	1,5 µg/l (Co)
H ₃ BO ₃	1140 mg/l	17,1 µg/l
Na ₂ EDTA ¹	1000 mg/l	15,0 µg/l
Solução Estoque 2 (10 L)		
Cloridrato de Tiamina (Vitamina B1)	50 mg/l	25 µg/l
Biotina (Vitamina H ou B7)	0,01 mg/l	0,005 µg/l
Cianocobalamina (Vitamina B12)	0,10 mg/l	0,05 µg/l
Solução Estoque 3 (1 L)		
K ₃ PO ₄	3,0 g/l	3,0 mg/l
NaNO ₃	50,0 g/l	50,0 mg/l
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	14,9 g/l	14,9 mg/l
1) Complexos de metais pesados, pela alta concentração de EDTA presente no meio nutritivo, pode impedir a realização dos ensaios de efluentes contendo metais pesados.		

Para os ensaios com *Skeletonema costatum*, estas microalgas são inoculadas às amostras preparadas, que estão em triplicata. Inicialmente são feitas as contagens de todas as amostras pela metodologia de contagem na câmara de Neubauer para a contagem estimada de células nos erlenmeyers com as amostras*. Em seguida os erlenmeyers são acondicionados à câmara incubadora a 20°C com luminescência permanente (24 horas por dia). O ensaio que teve duração de 96 horas (quatro dias), que foram conseqüentemente levados para a contagem na câmara de Neubauer, para a contagem estimada final. De forma simplificada, como comumente aos demais testes ecotoxicológicos, no cálculo leva-se em consideração a diferença da taxa de crescimento no branco (Somente com o meio Guillard) contra as demais amostras, para encontrar a taxa de inibição.

Logo, calculou-se primeiramente a taxa de crescimento, μ , por hora, para cada cultura teste, a partir da equação:

$$\mu = \frac{\ln N_L - \ln N_0}{t_L}$$

Onde

t_L : é o tempo, em horas, entre a última medição do período de crescimento exponencial (8.2) e o início do ensaio;

N_0 : é a densidade celular inicial (ver nota 9);

N_L : é a densidade celular medida no tempo t_L .

Em seguida calculou-se valores médios de μ para cada concentração teste e controle. A partir desses valores, calculou-se a porcentagem de inibição para cada concentração teste, a partir da equação:



$$I_{\mu i} = \frac{\bar{\mu}_c - \bar{\mu}_i}{\bar{\mu}_c} \times 100$$

$$\bar{\mu}_c$$

Onde

$I_{\mu i}$: é a porcentagem de inibição (taxa de crescimento) para a concentração teste i;

$\bar{\mu}_i$: é a taxa de crescimento média para a concentração teste i;

$\bar{\mu}_c$: é a taxa de crescimento média para o controle.

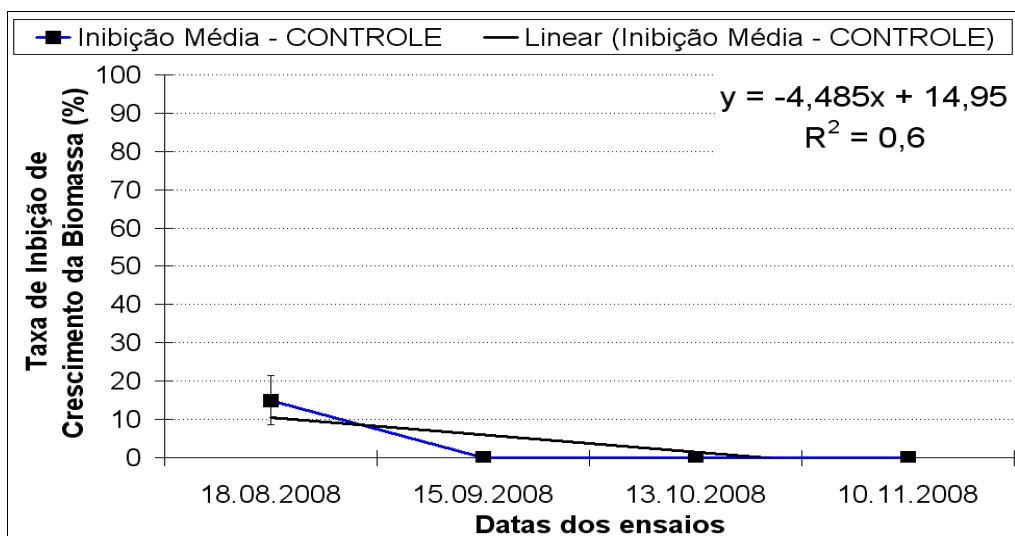
RESULTADOS DOS ENSAIOS COM *SKELETONEMA COSTATUM*

Tabela 4: Resultados ecotoxicológicos de *Skeletonema costatum* no sistema pet/lata no período de Três meses. Taxa de inibição em percentual (%) do crescimento da biomassa das algas.

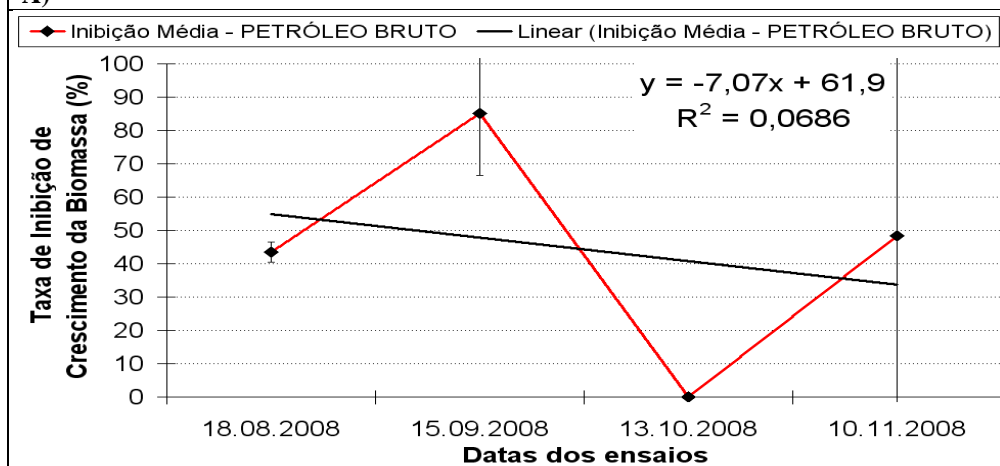
		Derrame	1º) Mês	2º) Mês	3º) Mês
		18/8/2008	15/9/2008	13/10/2008	10/11/2008
CONTROLE	C1	10,40	0,00	0,00	0,00
	C2	19,50	0,00	0,00	0,00
	C-Média	14,95	0,00	0,00	0,00
	C-Desv.P	6,43	0,00	0,00	0,00
PETRÓLEO	P1	41,40	98,30	0,00	0,00
	P2	45,60	71,90	0,00	96,60
	P-Média	43,50	85,10	0,00	48,30
	P-Desv.P	2,97	18,67	0,00	68,31
	P-T Student	*-5,6972	*-6,44	-	-1,00
FRAÇÃO 12	F12-1	100,00	100,00	100,00	100,00
	F12-2	100,00	100,00	100,00	100,00
	F12-Média	100,00	100,00	100,00	100,00
	F12-Desv.P	0,00	0,00	0,00	0,00
	F12-T Student	*-18,69	*-	*-	*-
FRAÇÃO 6	F6-1	100,00	100,00	100,00	100,00
	F6-2	100,00	100,00	100,00	100,00
	F6-Média	100,00	100,00	100,00	100,00
	F6-Desv.P	0,00	0,00	0,00	0,00
	F6-T Student	*-18,69	*-	*-	*-
FRAÇÃO 2	F2-1	100,00	0,00	0,00	40,50
	F2-2	67,10	18,20	0,00	38,00
	F2-Média	83,55	9,10	0,00	39,25
	F2-Desv.P	23,26	12,87	0,00	1,77
	F2-T Student	-4,01	-1,00	-	*-31,40

T Student - Diferença significativa de $\alpha = 0.05$ (valor T= 4,303, para grau de liberdade 2)

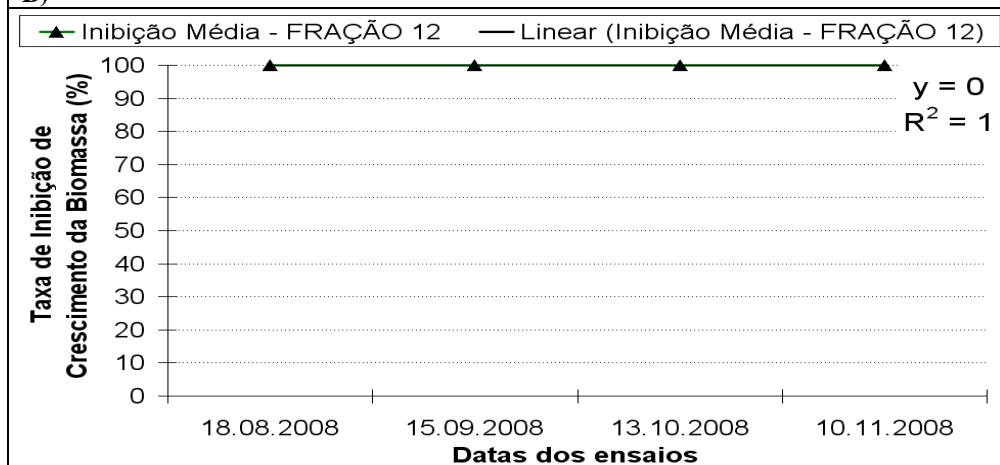
* Tóxico - Por apresentar diferença significativa. Devido a amostra em relação ao controle, apresentar o valor T fora da margem de significância determinada por α .



A)



B)



C)

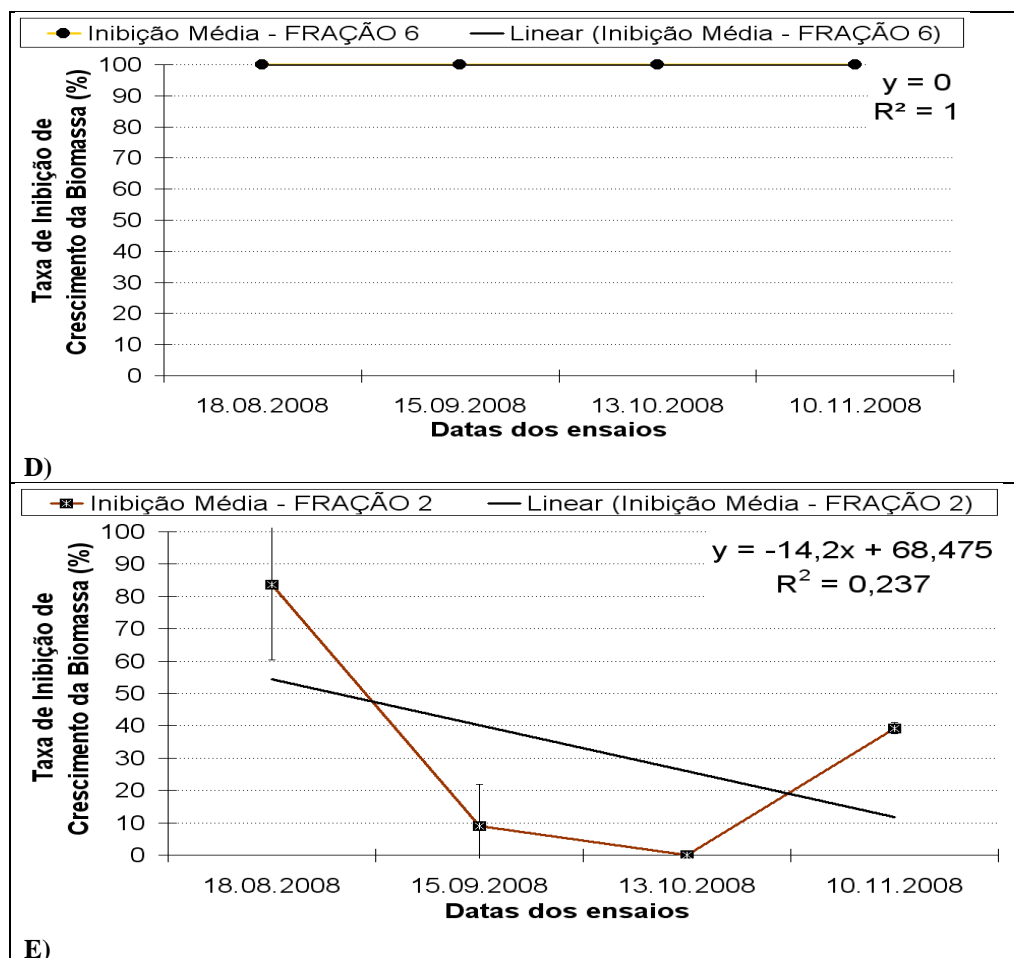


Figura 1: Taxas de inibição de crescimento da biomassa de *Skeletonema costatum* do elutriato de amostras de sedimento de manguezal contaminado com hidrocarbonetos de petróleo do sistema lata/pet, microcosmo. A) Resultados dos ensaios com amostra de sedimento de manguezal Controle. B) Resultados dos ensaios com amostra de sedimento de manguezal contaminado com Petróleo Bruto. C) Resultados dos ensaios com amostra de sedimento de manguezal contaminado com a Fração 12. D) Resultados dos ensaios com amostra de sedimento de manguezal contaminado com a Fração 6. E) Resultados dos ensaios com amostra de sedimento de manguezal contaminado com a Fração 2.

CONCLUSÕES

Com base no trabalho realizado, concluiu-se que:

O sedimento de manguezal provavelmente encontra-se com traços de poluentes provenientes do esgoto doméstico, uma vez que foi possível observar uma inibição inicial que foi eliminada a partir do segundo teste;

O petróleo bruto apresentou inibição quando comparado com o controle, contudo os números oscilaram de forma considerável;

Foi possível observar a colonização por microorganismos degradadores no petróleo bruto, o mesmo não foi observado nas frações mais leves, em que o hidrocarboneto se apresentava mais homogêneo ao líquido;

As frações mais leves (F12 e F6) apresentaram valores significativos de inibição até o final do experimento, mostrando-se como as frações mais tóxicas à alga, fato este passível de ser explicado pela emulsificação desses hidrocarbonetos;

A fração F2 apresentou-se altamente tóxica no início do experimento, contudo rapidamente sua toxicidade reduziu, indicando uma possível perda por volatilização;



A alga *Skeletonema costatum* mostrou-se sensível às diferentes frações de hidrocarbonetos de petróleo, contudo não foi possível observar até que ponto as frações mais leves ainda apresentariam toxicidade, sendo necessário um teste com maior extensão;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ISO 10253:1995(E). Qualidade de água –Teste de inibição do crescimento de alga marinha com *Skeletonema costatum* e *Phaeodactylum tricornutum*.
2. LACERDA, L.D. Manguezais: Florestas de Beira Mar. *Ciência Hoje*. vol.3, nº13, p. 63-70, 1984.
3. KANNAN, T. T., KUMAR, A., DURAISAMY, A. Remote Sensing for Mangrove Forest Management. CAS in Marine Biology, Annamalai University, 1998, <http://www.gisdevelopment.net/application/environment/wetland/envwm0002.htm>. Acesso: 30/11/2007.
4. KOENING, M. L., (1997). Ecologia e Dinâmica do Fitoplâncton no Estuário do Rio Ipojuca após a Implantação do Porto de Suape (Pernambuco – Brasil). Tese de Doutorado. UFPE. 263p.
5. SAENGER, P. E. J. et al., (1983). Global status of mangrove ecosystems. Commission on Ecology Papers No 3, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 88 p.
6. SINDERMAN, C.J., 1996. Ocean pollution. Effects on living resources and humans. CRC Press, Boca Raton, 275 p.