

Contaminação das águas pelo zinco — a dureza da água como um fator de modificação da toxicidade do zinco a peixes(*)

Eloisa Pozzi Gianotti (1)

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência das variáveis físico-químicas tais como: pH, dureza total e alcalinidade total da água, na toxicidade do zinco para "guarus", *Poecilia reticulata*.

Os ensaios foram do tipo estático e de curta duração (96 horas) para a determinação da toxicidade aguda através da CL_{50} neste período. A temperatura foi mantida relativamente constante em $23 \pm 1^\circ C$.

A água de diluição, preparada no laboratório, foi de dois tipos: muito mole e mole. Foi chamada de água muito mole a com as seguintes características: pH variando entre 6,6 e 7,1, alcalinidade total entre 8 e 10 mg/l de $CaCO_3$, dureza total entre 12 e 16 mg/l de $CaCO_3$; e água mole com pH entre 7,3 e 7,5, alcalinidade total entre 28 e 30 mg/l de $CaCO_3$ e dureza total entre 43 e 46 mg/l de $CaCO_3$.

Foi observado o comportamento dos animais em cada concentração-teste e periodicamente a cada 4 horas, durante o dia, os indivíduos mortos foram retirados dos aquários e quantificados.

A análise estatística dos resultados indicou que as variáveis alcalinidade e dureza foram importantes.

As concentrações que mataram 50% dos organismos estudados no intervalo de tempo de 96 horas (CL_{50} de 96 horas) foram as seguintes: 0,313 mg/l de Zn^{2+} para água muito mole e 9,230 mg/l de Zn^{2+} para a água mole.

Summary

The objective of this research was to study the influence of physicochemical variable like pH, total hardness and total alkalinity of the water on the toxicity of zinc to "guppies", *Poecilia reticulata*.

The experiments were static and with short duration (96 hours) to determine the acute toxicity during this period by

(*) A autora é muito grata ao Prof. José Francisco de Carvalho, do Departamento de Matemática da Unicamp, pela enorme colaboração que lhe prestou realizando o tratamento estatístico dos resultados de laboratório.

(1) Ecóloga — Mestre em Hidráulica e Saneamento.

means of LC_{50} . The temperature was kept relatively stable at $23 \pm 1^\circ C$.

The dilution waters, prepared in the laboratory were of two kinds: very soft and soft. It was called very soft water the one with the following characteristics: pH between 6.6 and 7.1, total alkalinity between 8 and 10 mg/l of $CaCO_3$, total hardness between 12 and 16 mg/l of $CaCO_3$. It was called soft water the one with: pH between 7.3 and 7.5, total alkalinity between 28 and 30 mg/l of $CaCO_3$ and total hardness between 43 and 46 mg/l of $CaCO_3$.

It was observed the comportament of the animals in each test concentration and periodically every 4 hours during the day the dead individuals were taken out of the aquarium and quantified.

The statistical analysis of the results indicated that the variables alkalinity and hardness was important.

The concentrations that kill 50% of the organisms studied in 96 hours (LC_{50} of 96 hours) were: 0.313 mg/l of Zn^{2+} for very soft water and 9.230 mg/l of Zn^{2+} for soft water.

1 Introdução

1.1 Zinco

O zinco é um metal branco azulado, com brilho forte que se esvanece gradualmente ao ar úmido como consequência de oxidação superficial (zo). Possui estrutura hexagonal compacta distorcida. Cada átomo de zinco tem seis vizinhos mais próximos equidistantes em seu próprio plano (a 2,659 Å) e seis outros, três acima e três abaixo deste plano, a distâncias um pouco maiores (a 2,906 Å).

Trata-se de um elemento relativamente abundante, pois constitui cerca de 0,02% da crosta da Terra, sendo cerca de cem vezes mais abundante que o cobre.

Os principais minérios de zinco são a blenda ZnS ; a calamina — $ZnCO_3$; a zincita — ZnO e a franklinita (Zn, Mn)O. Até pouco tempo atrás o zinco era quase que exclusivamente obtido por via seca, pelo processo de destilação. Atualmente, uma grande parte da produção mundial provém do processo

eletrolítico. Em qualquer um dos casos, o minério é convertido inicialmente a óxido: a blenda por ustulação ($ZnS + 3/2 O_2 \rightarrow ZnO + SO_2$) e a calamina por decomposição térmica ($ZnCO_3 \rightarrow ZnO + CO_2$). No processo de redução, o óxido de zinco é reduzido pelo carbono: $ZnO + C \rightarrow Zn + CO_2$; este em mistura com coque é aquecido a $1.200 - 1.300^\circ C$, temperatura maior que o ponto de ebulição do zinco, levando-se o metal à forma de vapor, o qual é condensado rapidamente obtendo-se o pó de zinco.

O processo eletrolítico consiste em lixiviar o resíduo da ustulação da blenda ou da decomposição térmica da calamina com ácido sulfúrico e então eletrodepositar o zinco em condições adequadas de acidez e densidade de corrente. Tal processo fornece zinco de grande pureza e apresenta rendimento maior do que o processo da destilação (19).

1.1.1 Utilização

O zinco é lançado no ambiente através de fontes industrial, agrícola e em menor escala a doméstica. Juntamente com o cobre, o cádmio e o níquel são os metais tóxicos mais comumente encontrados nos efluentes industriais. Nas estações de tratamento de águas residuárias são parcialmente precipitados nos tanques de sedimentação primária e secundária e, conseqüentemente, estarão presentes no lodo resultante (3).

As indústrias que lançam resíduos com quantidades significativas de zinco incluem (27):

- ligas de latão e de bronze;
- banhos de zinco e cobre (anticorrosão);
- manufaturas de utensílios de prata e aço inoxidável;
- produção de fibras e fios de rayon, viscose;
- produção de papel-jornal;
- produção de polpa de madeira.

Na agricultura, os pesticidas à base de zinco incluem predominantemente os **Fungicidas Ditiocarbâmicos**. São bastante usados no controle dos fungos que atacam as hortaliças e leguminosas.

No uso doméstico, o zinco está presente nas canalizações galvanizadas, utensílios, colas, pós cosméticos e farmacêuticos, unguentos, tecidos, produtos de porcelana, tintas, óleos e antissépticos.

2 Fatores ambientais que afetam a toxicidade do zinco

O período de sobrevivência dos peixes expostos a determinadas concentrações de zinco, sob certas condições ambientais, normalmente tende a diminuir com o aumento de tais concentrações. Alabaster e Lloyd (1) referindo-se a doses letais agudas afirmam existir uma relação curvilínea entre o logaritmo da concentração de zinco e o logaritmo do período médio de sobrevivência do peixe. Porém esta toxicidade é influenciada por alterações de alguns fatores ambientais que podem modificar a forma e posição dessas curvas.

Segundo Skidmore (22) e Alabaster e Lloyd (1) os fatores que podem afetar os níveis letais agudas são os seguintes: temperatura, pH e CO_2 dureza, sinergismo, oxigênio dissolvido, matéria orgânica, resistência do organismo, relação biomassa-volume de solução tóxica e diferença entre as espécies.

2.1 Dureza

A toxicidade de alguns cátions metálicos para os organismos aquáticos é antagonizada por outros, em solução. Uma solução salina "balanceada" fisiologicamente é aquela contendo sais diferentes, particularmente Na, Ca, K e Mg (principais cátions encontrados em águas naturais) em tais proporções que a toxicidade específica de cada um é neutralizada ou reduzida ao mínimo, através da ação antagonista de outros sais ou íons presentes (9). Assim, a dureza da água exerce um efeito antagonístico sobre a toxicidade do zinco.

3 Objetivo

Determinar a concentração de íons zinco que mata 50% dos organismos estudados no intervalo de tempo de 96 horas (CL_{50} de 96 horas) para o "guaru" (*Poecilia reticulata*) em água com dois teores diferentes de dureza.

4 Materiais e métodos

4.1 Organismo-teste

O peixe utilizado como bioindicador foi o "guaru" ou "barrigudinho" (*Poeci-*

lia reticulata), pertencente à família *Poeciliidae*, descrito por Peters em 1859.

A escolha destes indivíduos foi baseada:

- a) na relativa facilidade de ser encontrado;
- b) no tamanho relativamente pequeno (aproximadamente de 2 a 4 cm);
- c) no fácil manuseio;
- d) de acordo com o Standard Methods (25), trata-se de uma das espécies "padrão" no estudo dos bioensaios.

4.2 Coleta e manutenção no laboratório

Os peixes foram coletados num córrego da fazenda "Santana", município de São Carlos, SP, distando aproximadamente 20 km e transportados imediatamente aos laboratórios do Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (Crhea-USP) onde foi desenvolvido o estudo em questão.

A qualidade da água desse córrego foi determinada em termos de temperatura, oxigênio dissolvido, demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), alcalinidade total, dureza total, zinco total e resíduos de pesticidas organoclorados.

A metodologia utilizada seguiu as recomendações do Standard Methods (25), exceto a dos pesticidas organoclorados que seguiu as recomendações da A.O.A.C. (2).

4.3 Água de diluição

Como o objetivo do trabalho foi a determinação da CL_{50} em águas com diferentes teores de dureza, foram utilizados dois tipos de água preparados a partir de água destilada, com as seguintes características:

Tabela 1 — Características químicas da água de diluição.

Tipo de água	Sais requeridos (mg/l)					Qualidade da água		
	NaCO_3	$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	MgSO_4	KCl	pH *	Dureza Total (mg/l de CaCO_3)	Alcalinidade Total (mg/l de CaCO_3)	
Muito mole	12	7,5	7,5	0,5	6,4 — 6,8	10 — 13	10 — 13	
Mole	48	30	30	2,0	7,2 — 7,6	40 — 48	30 — 35	

* pH aproximado de equilíbrio após aeração e presença de peixes.

4.4 Fase de aclimação

A metodologia básica para a condução dos ensaios seguiu principalmente a orientação do Standard Methods (25) e da ISO (13).

Em laboratório, os "guarus" foram mantidos nos aquários de aclimação nas condições dos ensaios por um pe-

ríodo de uma semana. Durante este período os animais foram alimentados com larvas de quironomídeos criados em tanques adubados com esterco de galinha e eventualmente alimentados com ração artificial balanceada. A alimentação foi interrompida 24 horas antes dos ensaios.

A temperatura mantida durante a aclimação e ensaios foi de $23 \pm 1^\circ\text{C}$, de acordo com a norma da ISO (13). Além disso, de acordo com Langer et alii (16), os "guarus" têm melhor desempenho entre 22 e 24°C .

4.5 Fase dos bioensaios

Os ensaios foram do tipo estático e de curta duração (96 horas), com a determinação da concentração letal para 50% dos organismos (CL_{50}) neste período.

4.6 Equipamento utilizado

Foram usados dez aquários de acrílico com capacidade de dez litros cada um.

Para a manutenção da temperatura em $23 \pm 1^\circ\text{C}$ os aquários foram imersos num banho térmico constituído de uma caixa de amianto com capacidade de mil litros. Tal equipamento foi montado numa sala com ar condicionado que promovia a refrigeração da água e um ultratermostato húngaro, MTA Kutesz modelo 606, para o aquecimento, mantendo-se, assim, o equilíbrio na temperatura desejada.

4.7 Etapa experimental

O composto de zinco utilizado foi o sulfato de zinco ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) por ser solúvel em água.

tóxica, sendo um deles empregado como controle (somente água de diluição). A relação biomassa-volume permaneceu bem abaixo do limite de 0,8 mg/l para ensaios estáticos.

A escolha das concentrações do tóxico partiu da tentativa de estabelecer-se um intervalo, formando uma série geométrica que delimitasse um índice de mortalidade de 50% dos indivíduos para os dois níveis de dureza adotados. Daí os ensaios preliminares (P) e os finais (F), onde os intervalos já estavam estabelecidos. Os ensaios finais tiveram duração de 160 horas devido às exigências da análise estatística dos resultados e cada combinação do teor de alcalinidade e dureza foi repetida uma vez.

A escolha dos indivíduos foi feita ao acaso nos tanques de aclimação. Foi tomado o cuidado de testar organismos de cada sexo, de tamanhos semelhantes, pois na espécie estudada existe um dimorfismo sexual em relação ao tamanho e é conhecida a importância da relação biomassa-volume da solução tóxica.

Foi observado o comportamento dos animais em cada concentração-teste e periodicamente, a cada quatro horas, durante o dia, os indivíduos mortos foram retirados dos aquários e quantificados.

Foram feitas determinações da alcalinidade e dureza totais e pH da água de diluição (sem a introdução do zinco) no início dos ensaios preliminares e finais, após aeração da água por aproximadamente uma hora antes do início dos ensaios. Além disso, foram realizadas tais determinações da água de diluição após a introdução do $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ e no final dos últimos ensaios.

4.8 Análise estatística dos resultados

As variáveis utilizadas na análise dos resultados foram as seguintes: concentração de zinco calculada nominal, pH, alcalinidade e dureza totais da água de diluição isenta de zinco. Como as observações não excederam as 160 horas, sabendo apenas que o tempo de vida dos sobreviventes excedia aquele tempo, foi optado pelo uso da regressão de Cox (8) para avaliar os efeitos das variáveis de interesse, principalmente a concentração de zinco.

Os dados obtidos nos ensaios preliminares e finais foram analisados conjuntamente.

Para a investigação da CL_{50} , a quantificação do efeito da concentração de Zn^{2+} na mortalidade dos peixes, foi limitado o escopo ao efeito da concentração de Zn^{2+} em cada tipo de

dureza da água, no tempo padrão de 96 horas de exposição, mas pode-se obter uma quantificação do efeito do Zn^{2+} na probabilidade de morte.

Para cada tipo de água, mole (M) ou muito mole (MM), foi ajustada uma regressão logística (ver, por exemplo, Cox (8)).

O modelo ajusta uma curva sigmóide, necessariamente entre zero e um, para representar a probabilidade de morte até 96 horas de exposição, em função da concentração de zinco.

Seja Z a concentração de Zn^{2+} e $p(Z)$ a probabilidade de morte até 96 horas, temos:

$$Y = \log \left\{ \frac{p(Z)}{1-p(Z)} \right\} = a + bZ \quad (1)$$

O modelo logístico também foi ajustado por máxima verossimilhança.

O valor estimado de $p(Z)$ pode ser calculado (uma vez obtidos a e b) através de:

$$p(Z) = \frac{\exp(Y)}{1 + \exp(Y)} \quad (2)$$

que é inversa de (1).

Os dados obtidos experimentalmente foram tais que permitiram a estimativa direta de $p(Z)$, para algumas concentrações Z , diretamente.

Os cálculos foram realizados com o SAS-Statistical Analysis System num computador IBM 4341 do Ipen-Instituto de Pesquisas Nucleares (USP).

5 Resultados

A qualidade da água do córrego de coleta, mostrada através das médias dos parâmetros analisados, está representada na Tabela 2 e é relativa à média dos resultados de duas coletas realizadas em junho de 1984. A Tabela 3 mostra as concentrações dos resíduos de pesticidas organoclorados numa única coleta, no mesmo período.

Tabela 2 — Qualidade da água do córrego de coleta dos peixes.

Variáveis	Médias
Temperatura (°C)	18
Oxigênio dissolvido (mg/l)	7,0
DQO (mg/l)	18,0
DBO (mg/l)	3,0
pH	6,6
Alcalinidade total (mg/l de $CaCO_3$)	28,0
Dureza total (mg/l de $CaCO_3$)	20,0
Zinco total (mg/l)	0,045

Período: Junho/84.

As condições dos ensaios e as características químicas da água de diluição estão na Tabela 4.

As porcentagens de sobreviventes nas respectivas concentrações de

Zn^{2+} calculadas nominais estão na Tabela 5.

Com relação ao comportamento dos indivíduos expostos ao tóxico, foi observado que, logo após a introdução destes nos aquários, não houve percepção do poluente e os animais nadaram normalmente. Após alguns minutos, dependendo da concentração do metal, os sintomas de intoxicação começaram a se manifestar. Nas doses agudas os animais atingidos, geralmente, apresentaram no início movimentos bruscos, procurando o fundo do aquário, permanecendo alguns minutos, recuperando-se a seguir. Em seguida, possivelmente na tentativa de vencer a asfixia, os peixes procuraram a superfície do aquário com movimentos frequentes da cavidade bucal e todos os movimentos tornaram-se mais lentos.

A medida que o tempo de exposição e as concentrações do poluente aumentaram, os movimentos operculares também aumentaram e os movimentos respiratórios tornaram-se mais difíceis.

Em estágios mais avançados da intoxicação o senso de equilíbrio foi afetado, causando mudanças no modo de nadar, tal como inclinação e giro, aparentemente agravado por distorções musculares. Longos períodos de completa inatividade, alternados por curtos períodos de natação espasmódica, a qual não permitiu ao peixe manter o equilíbrio, precederam à morte.

A morte foi constatada pela perda completa dos movimentos e reflexos aos estímulos provocados.

As Tabelas 6 e 7 mostram os valores de pH, alcalinidade total e dureza total da água de diluição, no início dos ensaios, após a adição do $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$. Os valores finais de tais variáveis para os últimos ensaios estão nas Tabelas 8 e 9.

Vários modelos foram ajustados e seu grau de ajuste avaliado estatisticamente pelo teste qui-quadrado.

Foi concluído portanto que as seguintes variáveis foram importantes: concentração de zinco, alcalinidade e dureza totais da água de diluição.

A CL_{50} foi obtida a partir da equação:

$$Y = \log \left\{ \frac{p(Z)}{1-p(Z)} \right\} = a + bZ$$

substituindo-se $p(Z)$ por 0,5 e resolvendo a equação resultante em Z . Os resultados são:

Dureza	a	b	CL_{50} (mg/l de Zn^{2+})
M	-4,054	0,435	9,230*
MM	-0,440	1,407	0,313*

Variáveis	Concentrações (ppb)
Pesticidas organoclorados	
α — BHC	1,6
γ — BHC	2,3
Heptacloro	6,1
Aldrin	1,3
Dieldrin	0,16
DDT	7,0

Tabela 3 — Resíduos de pesticidas organoclorados do córrego de coleta dos peixes.

da água do córrego de coleta parece ser boa, de acordo com os Padrões Brasileiros de Potabilidade da Água. Além disso, pela observação dos tipos de atividades agrícolas desenvolvidas ao longo do córrego, foi observado tratar-se de um rio não poluído por zinco.

Quanto aos pesticidas organoclorados, foi observado que o Heptacloro está acima da concentração máxima permitida, que é de 0,0001 mg/l de acordo com os Padrões.

Segundo Warren (26), a condição letal é uma característica de alguns ambientes, enquanto a tolerância é uma característica de alguns organismos. Um ambiente pode ser letal a apenas um organismo e um organismo pode ser tolerante apenas a uma condição ambiental. Assim sendo, os organismos podem tolerar uma situação letal por algum tempo, mas não indefinidamente, pois, desse modo, a condição não seria letal.

Tal como mencionamos na parte introdutória deste trabalho, a condição letal de um ambiente normalmente não é originada de um fator isolado e sim da interação de dois ou mais fatores. Um único fator pode ser o agente letal, porém a sua intensidade de ação depende dos níveis de outros fa-

Período: Junho/84.

Tabela 4 — Condições dos ensaios e características químicas da água de diluição

Data	Tipo de ensaio	pH	Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)	Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)
03/01/84	Preliminar (P1)	6,9	9	12
23/01/84	Preliminar (P2)	6,9	8	12
20/02/84	Preliminar (P3)	6,9	9	12
26/03/84	Preliminar (P4)	6,9	9	12
02/04/84	Preliminar (P5)	7,0	10	12
10/04/84	Preliminar (P6)	7,0	9	12
22/05/85	Preliminar (P7)	7,5	28	43
29/05/84	Preliminar (P8)	7,6	28	43
30/07/84	Final (F1)	6,7	8	15
06/08/84	Final (F2)	7,1	10	16
03/09/84	Final (F3)	7,5	28	46
10/09/84	Final (F4)	7,3	30	44

Tabela 5 — Tipos e condições dos ensaios e tolerância dos peixes

Ensaio (P1) MM	Ensaio (P2) MM	Ensaio (P3) MM	Ensaio (P4) MM	Ensaio (P5) MM	Ensaio (P6) MM	Ensaio (P7) M —	Ensaio (P8) M —
Concent. % Zn ²⁺ + calc. sobreculada nominal							
0,0025 100	0,005 100	0,5 70	0,02 100	0,02 100	0,02 100	0,16 100	0,16 100
0,005 100	0,01 100	1,0 30	0,04 100	0,04 100	0,04 90	0,32 100	0,32 100
0,01 100	0,02 100	1,5 60	0,08 80	0,08 100	0,08 50	0,64 100	0,64 100
0,025 100	0,04 90	1,75 60	0,16 90	0,16 100	0,16 90	1,28 90	1,28 100
0,05 100	0,08 90	2,0 30	0,32 60	0,32 90	0,32 90	2,56 100	2,56 100
0,1 90	0,16 90	2,25 10	0,64 70	0,64 60	0,64 100	5,12 100	5,12 100
0,3 60	0,32 60	2,5 50	1,28 80	1,28 90	1,28 80	10,24 90	10,24 90
0,5 70	0,64 90	3,0 ∅	2,56 70	2,56 ∅	2,56 60	20,48 ∅	20,48 ∅
0,8 80	1,28 70	4,0 20	5,12 ∅	5,12 10	5,12 10	40,96 ∅	40,96 ∅

Ensaio (F1) MM —	Ensaio (F2) MM —	Ensaio (F3) M —	Ensaio (F4) M
0,02 100	0,02 100	0,16 100	0,16 100
0,04 100	0,04 100	0,32 100	0,32 100
0,08 100	0,08 90	0,64 100	0,64 100
0,16 90	0,16 70	1,28 100	1,28 90
0,32 80	0,32 50	2,56 90	2,56 60
0,64 30	0,64 30	5,12 80	5,12 40
1,28 50	1,28 10	10,24 10	10,24 20
2,56 40	2,56 ∅	20,48 10	20,48 ∅
5,12 ∅	5,12 ∅	40,96 ∅	40,96 ∅

MM — água muito mole
M — água mole

* valores obtidos a partir das concentrações calculadas nominais de Zn²⁺.

Os dados experimentais foram tais que permitiram as estimativas de p(Z), para algumas concentrações, diretamente. Estas estimativas puderam ser comparadas às obtidas com o modelo.

As Figuras 1 e 2 mostram uma estimativa contra a outra e uma reta

(grosseiramente) revela a adequação do modelo. Pode-se notar que os modelos estão razoáveis, notavelmente bom no caso da água muito mole, Figura 3.

6 Discussão

De acordo com os resultados mostrados nas Tabelas 1 e 2, a qualidade

tores ambientais que podem ser físicos, químicos e mesmo biológicos, assim como a tolerância do próprio organismo.

Ainda de acordo com Warren (26), a capacidade de um organismo tolerar uma condição letal está relacionada à sua constituição genética e à história do ambiente, pois estes fatores interagem caracterizando o comporta-

Tabela 6 — Características químicas das soluções tóxicas com água muito mole no início do ensaio

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	pH	Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)	Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)
Controle	6,8	8	12
0,02	6,8	8	12
0,04	6,8	8	12
0,08	6,7	8	12
0,16	6,7	8	12
0,32	6,7	8	12
0,64	6,7	8	12
1,28	6,7	8	14
2,56	6,7	8	14
5,12	6,7	8	20

Tabela 7 — Características químicas das soluções tóxicas com água mole no início do ensaio

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	pH	Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)	Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)
Controle	7,6	26	42
0,16	7,6	26	44
0,32	7,6	26	42
0,64	7,6	26	44
1,28	7,6	26	46
2,56	7,5	26	46
5,12	7,4	26	50
10,24	7,3	26	60
20,48	7,3	26	72
40,96	7,1	26	102

Tabela 8 — Características químicas das soluções tóxicas com água muito mole

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	pH		Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)		Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)		OD (mg/l)		pH		Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)		Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)	
	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
Controle	6,7	6,5	8	8	15	15	7,2	6,7	7,1	7,0	12	12	14	14
0,02	6,7	6,4	—	10	—	15	7,2	6,9	—	7,0	—	12	—	14
0,04	6,7	6,8	—	10	—	15	7,2	6,9	—	7,0	—	12	—	16
0,08	6,7	6,6	—	10	—	15	7,2	7,0	—	7,2	—	12	—	16
0,16	6,7	6,6	—	10	—	15	7,2	7,0	—	7,0	—	12	—	16
0,32	6,7	6,9	—	10	—	15	7,2	7,0	—	7,0	—	12	—	16
0,64	6,7	6,8	—	10	—	16	7,2	7,4	—	6,9	—	12	—	16
1,28	6,7	6,8	—	10	—	16	7,2	7,1	—	6,8	—	12	—	18
2,56	6,7	6,7	—	10	—	16	7,2	7,1	—	6,8	—	12	—	20
5,12	6,7	6,7	—	8	—	20	7,2	7,0	—	6,8	—	10	—	22

I = início dos ensaios

F = final dos ensaios (após 160 horas de exposição)

Tabela 9 — Características químicas das soluções tóxicas com água mole

Concentração de Zn ²⁺ calculada nominal (mg/l)	pH		Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)		Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)		OD (mg/l)		pH		Alcalinidade Total (mg/l de CaCO ₃)		Dureza Total (mg/l de CaCO ₃)	
	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
Controle	7,5	7,5	28	28	46	46	7,0	6,6	7,3	7,3	30	30	—	44
0,16	—	7,1	—	28	—	46	7,0	6,6	—	7,3	—	30	—	44
0,32	—	7,2	—	28	—	52	7,0	6,7	—	7,2	—	34	—	44
0,64	—	7,1	—	28	—	52	7,0	6,6	—	7,3	—	30	—	46
1,28	—	7,0	—	26	—	52	7,0	6,7	—	7,1	—	30	—	48
2,56	—	7,1	—	28	—	60	7,0	6,6	—	7,1	—	32	—	52
5,12	—	7,0	—	28	—	70	7,0	6,4	—	7,0	—	30	—	54
10,24	—	7,1	—	28	—	72	7,0	6,6	—	7,2	—	32	—	58
20,48	—	6,9	—	24	—	72	7,0	6,9	—	7,0	—	30	—	70
40,96	—	6,7	—	18	—	100	7,0	6,9	—	6,5	—	20	—	98

I = início dos ensaios

F = final dos ensaios (após 160 horas de exposição)

mento do organismo a um determinado momento. Portanto a tolerância não é um atributo muito constante. Está sujeita a mudanças com o desenvolvimento e a idade do organismo durante toda sua vida. Além disso, ela não depende apenas de uma experiência nova de um organismo com o agente letal, mas também de experiências prévias. Embora tenha sido tomado o

maior cuidado possível na escolha de indivíduos semelhantes e que não tinham experiência prévia com o poluente, foi notado que dois organismos mesmo com um relacionamento muito próximo não são iguais e, consequentemente, não têm a mesma capacidade de tolerância à mesma condição letal.

Quando realizamos um ensaio bioló-

gico procurando simular em laboratório as características de um meio ambiente, nosso objetivo principal é chegar a uma idéia global quanto à letalidade, tolerância e comportamento de um organismo frente ao poluente, a fim de explorar os mesmos para o ambiente de origem, procurando evitar e prevenir tais substâncias agressoras.

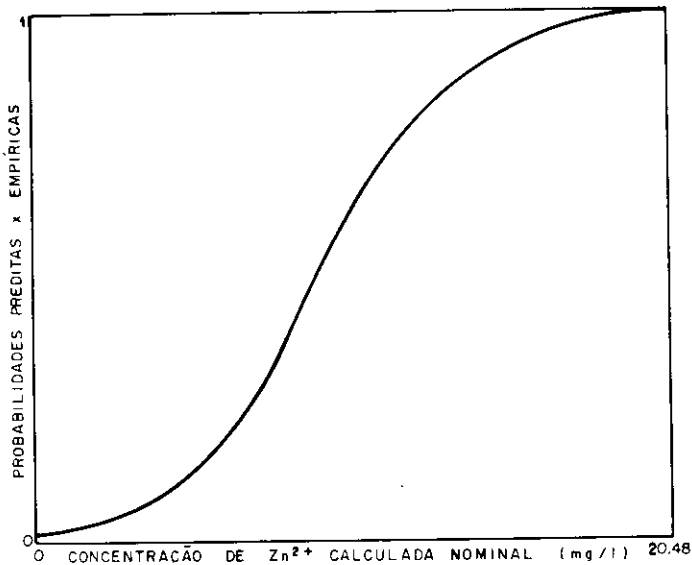


Figura 1 — Probabilidades preditas versus empíricas de morte dos peixes em 96 horas em água mole.

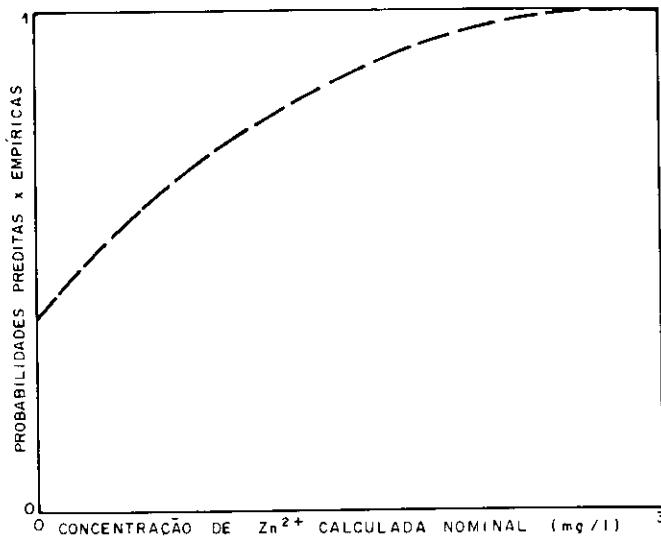


Figura 2 — Probabilidades preditas versus empíricas de morte dos peixes em 96 horas em água muito mole.

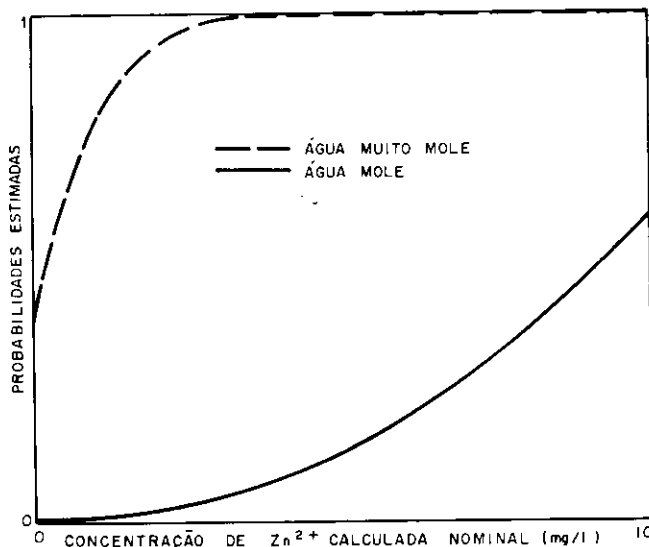


Figura 3 — Probabilidades estimadas de morte dos peixes até 96 horas.

Entretanto, Skidmore (22), revendo a toxicidade do zinco a animais aquáticos, concluiu que há uma lacuna considerável nos estudos que comparam a sensibilidade entre as espécies.

Os dados do presente trabalho mostram que a CL_{50} de 96 horas e de 0,313 mg/l de Zn^{2+} para a água muito mole e de 9,230 mg/l de Zn^{2+} para a água mole, obtidas a partir das concentrações calculadas nominais.

Embora a análise estatística dos dados tenha considerado somente os valores de pH no início dos ensaios, foi notado que suas variações foram relativamente pequenas.

Após a introdução do zinco, as variações do pH em água muito mole, com concentrações baixas de zinco foram de 6,8 (controle) a 6,7 (Tabela 6); em água mole, com concentrações mais elevadas, de 7,6 (controle) a 7,1 (Tabela 7). Ao término dos ensaios finais foram notadas as seguintes variações: em água muito mole (Tabela 8) pH 6,9 a 6,4 e 7,0 a 6,8; em água mole (Tabela 9) pH 7,5 a 6,7 e 7,3 a 6,5.

Após a introdução do zinco, no início dos ensaios, os valores de alcalinidade permaneceram inalterados, tanto nos controles como nas concentrações de zinco estudadas, 8 mg/l de $CaCO_3$ em água muito mole (Tabela 6) e 26 mg/l de $CaCO_3$ em água mole (Tabela 7). Tal fato não ocorreu, entretanto, com a dureza, que mostrou uma variação de 12 a 20 mg/l de $CaCO_3$ em água muito mole (Tabela 6) e de 42 a 102 mg/l de $CaCO_3$ em água mole (Tabela 7), onde as concentrações de zinco foram mais elevadas. Este fenômeno também foi observado por Cairns et alii (5).

Segundo Caull e Crossland (7), o cálcio e o magnésio são os principais componentes responsáveis pela dureza da água. Alumínio, bário, zinco, estrôncio, ferro, manganês e outros íons podem causar dureza. Porém, sob condições naturais, são encontrados em pequenas quantidades.

Ao término dos ensaios finais foram notadas as seguintes variações: em água muito mole (Tabela 8) alcali-

linidade de 8 a 10 e 10 a 12 mg/l de $CaCO_3$ e dureza de 15 a 20 e 14 a 22 mg/l de $CaCO_3$; em água mole (Tabela 9) alcalinidade de 18 a 28 e 20 a 34 mg/l de $CaCO_3$ e dureza de 46 a 100 e 44 a 98 mg/l de $CaCO_3$.

Mount (18), estudando a toxicidade do sulfato de zinco a "fathead minnows" (*Pimephales promelas*) expostos a três níveis de pH (6, 7 e 8) e três níveis de dureza (50, 100 e 200 mg/l de $CaCO_3$), observou que o zinco foi mais tóxico em pH 8 e dureza de 50 e menos tóxico em pH 6 e dureza de 200. Cairns e Scheier (5) observaram que a CL_{50} para "bluegills" (*Lepomis macrochirus*) variou de 2,86 a 3,78 mg/l de Zn^{2+} e em água dura de 10,13 a 12,5 mg/l de Zn^{2+} . Os autores sugerem que em água mole o processo cumulativo do metal no peixe deve ser mais rápido do que em água dura.

Segundo Sinley et alii (21) os valores da CL_{50} para "trutas arco-íris" jovens em água dura (330 mg/l de $CaCO_3$) foram de 7210 e 430 mg/l, respectivamente. Em ensaios crônicos, a "máxima concentração de tóxico aceitável" (MATC) em água dura foi aproximadamente 2,5 vezes maior do que em água mole.

Heibrunn (11) e (12) sugeriu que a toxicidade da maioria dos íons metálicos é devida à sua capacidade de coagular o protoplasma celular, mas esta coagulação é inibida pelos íons cálcio. Jones (14) observou que a adição de cálcio na água, em soluções tóxicas de zinco e chumbo, impede a reação entre os íons metálicos e o muco, o que é uma característica essencial do processo tóxico. Sugeriu então que um rio com um adequado suprimento de bicarbonato de cálcio teria um efeito menos sério de poluição por estes metais do que um rio com água mole. O bicarbonato de

cálcio, reagindo com o zinco e chumbo, forma carbonatos insolúveis que são inócuos.

Por outro lado, existe uma outra teoria sobre o mecanismo de antagonismo exercido pelos metais alcalino-terrosos que é a teoria da permeabilidade. De acordo com esta teoria, um composto antagoniza o efeito de outro por reduzir a permeabilidade das membranas celulares, reduzindo a velocidade de penetração no tecido do segundo composto. Trutas criadas em água dura e expostas a uma concentração tóxica de zinco em água mole sobreviveram o mesmo tempo que as criadas tanto em água mole como água dura e expostas ao zinco em água dura. Nos três casos o tempo de sobrevivência foi aproximadamente o mesmo e foi muito maior do que o das trutas criadas em água mole e então expostas ao zinco em água mole. Como o peixe que foi criado em água mole e testado em água dura não teve tempo hábil de absorver íons cálcio ou magnésio, antes da exposição ao zinco, sugeriu que o antagonismo dos íons zinco pela água dura atuou na superfície do peixe (22).

Brafield e Matthiessen (4) em experimentos com *Gasterosteus aculeatus* verificaram que nenhum peixe morreu ou mostrou anomalia de comportamento quando exposto a 6,5 mg/l de ZnSO₄ em água dura (280 mg/l de CaCO₃). Experimentos conduzidos com água destilada tamponada e zinco mostraram uma taxa de mortalidade maior, sugerindo que, quanto mais tempo os peixes ficarem em água isenta de cálcio, mais cálcio será perdido de seus tecidos, e daí menor o tempo de sobrevivência quando expostos ao zinco. Num trabalho posterior os mesmos autores observaram que a absorção do Zn⁶⁵ em água dura foi de 3,5 vezes maior do que em água isenta de cálcio, apesar de a água dura ser menos tóxica. Esta diferença não pode ser atribuída à solubilidade, pois o CO₂ que sustentava o pH manteve a maioria do zinco em solução. Além disso observaram que os peixes aclimatados por 18 horas na água, com as mesmas características do ensaio, geralmente absorveram menos zinco do que os aclimatados por duas horas. Os autores sugeriram que a principal fonte de absorção do zinco são as brânquias e que esta espécie possui a capacidade de reduzir seus níveis internos de zinco (cerca de 75%) quando exposta em água isenta de zinco, fenômeno este que pode estar vinculado à ação protetora do cálcio durante o envenenamento. Os metais alcalino-terrosos, principalmente o Ca e o Mg, em águas naturais impedem a ação tóxica do

zinco por reduzir a permeabilidade da membrana celular, desde que são todos bivalentes, competem pelos sítios ativos das proteínas, impedindo o zinco de ligar-se irreversivelmente às enzimas. Outra hipótese é que os alcalino-terrosos podem proteger diretamente os processos bioquímicos em que há interferência do zinco. Assim sendo, este efeito de proteção interna é distinto da precipitação externa de carbonatos relativamente insolúveis e hidróxidos de zinco, os quais ocorrem quando o pH e a dureza são altos, Halme e Kroonty (10) e Solbé (23).

O fato de que peixes expostos a níveis mais altos de cálcio absorvem mais Zn⁶⁵ que os expostos a níveis baixos, facilitando assim a acumulação de zinco, não está ainda compreendido e conflita-se com a idéia de que o cálcio reduziria a permeabilidade da membrana aos metais pesados. Uma possível explicação é que, na ausência de cálcio, o muco coloidal normal que recobre a superfície do corpo e das brânquias é precipitado pelo zinco e se desprende na água, Jones (14). Isto poderia proteger o peixe inicialmente e explicaria a absorção aparentemente baixa do zinco em água isenta de cálcio (17).

7 Conclusão

a) A toxicidade do zinco aumentou com a diminuição dos níveis de alcalinidade e dureza da água.

b) A CL₅₀ de 96 horas para *Poecilia reticulada* (guaru) submetidos à intoxicação aguda, corresponde a 0,313 mg/l de Zn² em água muito mole e a 9,230 mg/l de Zn² em água mole.

8 Referências bibliográficas

- 1 — ALABASTER, J. S. & LLOYD, R. — *Water Quality Criteria for Freshwater Fish*. 2.ª ed. London, FAO, 1982. 159-182 p.
- 2 — ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. — Official methods of analysis of the Association of Official Analytical chemists. 11th ed. Washington, D.C., AOAC, 1970.
- 3 — BENN, R. F. & MAC AULIFE, A. C. — *Química e Poluição*. São Paulo. Livros Técnicos e Científicos. USP, 1981.
- 4 — BRAFIELD, A. E. & MATHIESSSEN, P. — Oxygen consumption by sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus* L.) exposed to zinc. *J. Fish Biol.* 9: 359-370, 1976.
- 5 — CAIRNS, J. Jr. et alii — The effect of pH, solubility and temperature upon the acute toxicity of zinc to the blue gill sunfish (*Lepomis macrochirus* Raf.) *Trans. of the Kansas Acad. of Science*, 74 (1): 81-91, 1971.
- 6 — CAIRNS, J. Jr.; VAN DER SCHALIE, W. H. & WESTLAKE, G. F. — The effects of lapsed time since feeding upon the toxicity of zinc to fish. *Bull. of Env. Cont. & Toxicol.*, 13 (3): 269-274, 1975.
- 7 — CAULL, Mc J. & CROSSLAND, J. — An uncommon friend In: *Water Pollution*. New York, Harcourt Brace Javanovich, 1974. p. 30-67.
- 8 — COX, D. F. — *The Analysis of Binary Data*. Londres, Matheusen, 1970.
- 9 — DOUDOROFF, P. & KATZ, M. — Critical review of literature on the toxicity of industrial wastes and their components to fish II. The metals, as salts. *Sewage and Ind. Wastes*, 25:802-839, 1953.
- 10 — HAIMET, H. C. H. & KROONTY, W. — Significance of pH and chloride concentration on behaviour of heavy metal pollutants: Mercury (II), cadmium (II), zinc (II), and lead (II). *J. Environ. Qual.* 2:444-450, 1973.
- 11 — HEILBRUNN, L. V. — The colloid chemistry of protoplasm 1928. *Apud. SKIDMORE, J. F.* — Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. *Quart. Rev. Biol.*, 39 (3):227-348.
- 12 — HEILBRUNN, L. V. — An outline of general physiology, 1937. *Apud. SKIDMORE, J. F.* — Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. *Quart. Rev. Biol.*, 39 (3):227-248.
- 13 — INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO) — *Darf International Standard. ISO/DIS 7346 /1*. 1982.
- 14 — JONES, J. R. E. — The relative toxicity of salts of lead, zinc and copper to the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*, L.) and the effect of calcium on the toxicity of lead and zinc salts. *J. Exp. Biol.*, 15: 394-407, 1938.
- 15 — KNANGAROT, B. s. — Experimental investigation on the acute toxicity of zinc to a freshwater teleost. *Puntius sofore* (Hamilton). *Revista de Biologia*, 11: 119-127, 1979.
- 16 — LANGER, K. F. et alii — *Ichthyology*. 2.ª ed. New York, Wiley, 1977. 506 p.
- 17 — LLOYD, R. — The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout. *Ann. Apl. Biol.* 48 (1): 84-94, 1960.
- 18 — MOUNT, D. I. The effect of total hardness and pH on acute toxicity of zinc to fish. *Air & Wat. Pollut. Int. J.*, 10: 49-56, 1966.
- 19 — OHLWELLER, O. A. — *Química Inorgânica*. São Paulo, Edgard Bücher Ltda, 1973. 373-380 p.
- 20 — QUAGLIANO, J. V. e VALLARINO, L. M. — *Química*. Rio de Janeiro, Guanabara Dois S.A., 1979. 794-798 p.
- 21 — SINLEY, J. R.; GOETTL, J. P. & DAVIES, P. H. — The effects of zinc on rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in hard and soft water. *Bull. Env. Cont. & Toxicol.* 12 (2): 193-201, 1974.
- 22 — SKIDMORE, J. F. — Toxicity of zinc compounds to aquatic animals, with special reference to fish. *Quart. Rev. Biol.*, 39 (3): 227-248, 1964.
- 23 — SOLBÉ, J. F. — The toxicity of zinc sulphate to rainbow trout in very hard water. *Wat. Res.*, 8:398-391, 1974.
- 24 — SPRAGUE, J. B. — Lethal concentration of copper and zinc for young Atlantic Salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 21 (1): 17-26, 1964.
- 25 — STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTE-WATER — 14. ed. Washington, APWA-AWWA — WPCF, 1976. 615-743 p.
- 26 — WARREN, C. E. — *Biology and Water Pollution Control*. W. B. Saunders, 1971. 192-213 p.
- 27 — WATSON, M. R. — *Pollution Control in Metal Finishing*. United States of America, Noyes Data Corporation, 1973. 241-247 p.