

Análise do potencial de toxicidade química do Diclofenaco de Sódio com uso das ‘*Artemia* sp (Crustacea, Brachiopoda)’ **Analysis of the potential chemical toxicity of Diclofenac Sodium using ‘*Artemia* sp (Crustacea, Brachiopoda)’**

Maria Clara Diniz Nicolau¹, Livia Piassa Almeida², Wanessa Algarte Ramsdorf³

RESUMO

Durante sua vivência no laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), os alunos são designados a trabalharem com diversos organismos e organismos vivos, aquáticos ou não, e aprenderem com análises e ensaios sobre a sensibilidade destes organismos à toxicidade de compostos químicos oferecidos pelas orientadoras. Todos os resultados são documentados e discutidos com colegas e professores, trazendo então conhecimento e experiência aplicados de forma teórica e prática na área em questão. As *Artemia* sp (Crustacea, Brachiopoda) são um dos organismos vivos aquáticos criados no laboratório e que foram utilizados para a pesquisa em questão. Para a realização, usam-se normas para consulta e recursos oferecidos pelo laboratório, e a produção dos organismos é feita quantitativa e qualitativamente com os equipamentos adequados. Neste artigo serão apresentados os resultados obtidos no mês de abril de 2023 até o mês de setembro de 2023, assim como todos os cálculos realizados, compostos e métodos utilizados e a conclusão sobre o andamento da pesquisa durante os seis meses documentados.

PALAVRAS-CHAVE: *Artemia* sp; Ecotoxicologia; Pesquisa Científica; Crustacea; Brachiopoda.

ABSTRACT

During their experience in the Ecotoxicology laboratory at the Federal Technological University of Paraná (UTFPR), students are assigned to work with various living organisms and microorganisms, whether aquatic or not, and learn through analyzes and tests about the sensitivity of these organisms to the toxicity of chemical compounds. offered by the supervisors. All results are documented and discussed with colleagues and teachers, bringing knowledge and experience applied theoretically and practically in the area in question. *Artemia* sp (Crustacea, Brachiopoda) are one of the live aquatic microorganisms created in the laboratory and used for the research in question. To carry it out, consultation standards and resources offered by the laboratory are used, and the production of microorganisms is done quantitatively and qualitatively with the appropriate equipment. This article will present the results obtained from April 2023 to September 2023, as well as all the calculations carried out, compounds and methods used and the conclusion about the progress of the research during the six months documented.

KEYWORDS: *Artemia* sp; Ecotoxicology; Scientific Research; Crustacea; Brachiopoda.

¹ Voluntário do(a) Laboratório de Ecotoxicologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: maria.060203@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 2843562664846765.

² Voluntário do(a) Laboratório de Ecotoxicologia.. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: livia.2022@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 1982116685801657.

³ Docente no Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil. E-mail: wanessa6@yahoo.com.br. ID Lattes: 7831415947244973.

INTRODUÇÃO

As *Artemia* sp são organismos aquáticos que vivem em águas salgadas e sua relevância biológica se dá devido a capacidade de reduzir partículas poluidoras flutuantes e resistir à alta salinidade. Ela é amplamente usada como alimento vivo para peixes e outros tipos de crustáceos já que seus ovos podem ser encontrados facilmente em lojas de aquarismo. Quando os ovos não eclodem, eles se tornam metabolicamente inativos, podendo ser conservados por grandes períodos se forem preservados desidratados e de preferência em vácuo e baixas temperaturas (IPIMAR).

O fármaco utilizado na pesquisa, o diclofenaco de sódio, é de uso rotineiro e comum em todo país e mundo, e por fim é dispensado por nas águas pluviais, chegando então às marítimas por redes de esgoto ou afins e pode, conseqüentemente, pode prejudicar o ecossistema.

A ecotoxicologia é a área de estudo dos efeitos de contaminantes em indivíduos ou grupos de indivíduos, percebidos através de ensaios de toxicidade aguda, sub-crônica e crônica. Nos ensaios realizados em laboratório, os organismos-teste foram expostos a diferentes concentrações de amostra e os efeitos tóxicos observados são observados através da letalidade.

O objetivo da pesquisa é determinar a concentração efetiva (CE50): concentração nominal que causa efeito deletério a 50% dos organismos-testes em um tempo de exposição (UNESP).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios seguiram a norma ABNT NBR 16530:2021. O composto escolhido foi o fármaco diclofenaco de sódio (DFC). O diclofenaco é um anti-inflamatório não-esteróide de fórmula molecular $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ e massa molar 318,1 g/mol.

Para realizar os testes foram preparadas soluções-teste com o composto em balões volumétricos, seguindo as devidas proporções, e foi preparada uma solução controle, na qual são reproduzidas as condições do ensaio sem a presença da amostra, apenas a solução de água do mar restituída preparada no laboratório.

A eclosão dos cistos de *Artemia* sp. foi executada seguindo a norma de referência com oxigênio dissolvido, pH, sais, salinidade e temperatura adequados para a sobrevivência dos organismos-teste. A incubação dos cistos foi feita na ausência de luz a uma temperatura de 25°C por 24 horas, quando foram descartadas cascas de cistos e organismos mortos, e os organismos remanescentes foram incubados novamente por mais 24 horas.

Nos ensaios foram expostos 10 organismos-teste por concentração ($\mu\text{g/L}$) e 10 organismos-teste na solução controle de água do mar restituída, os quais foram incubados a temperatura de 25°C por 48 horas. Foram realizados quatro ensaios ao total e as concentrações a qual os organismos-teste foram submetidos foram de 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{g/L}$, medidas com micropipeta, e diluídas em béqueres de 10ml.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

RESULTADOS OBTIDOS COM O DICLOFENACO DE SÓDIO

Na tabela abaixo são apresentados os resultados dos ensaios com o diclofenaco de sódio. A partir da relação entre as artêmias mortas com a quantidade total, se apresenta a porcentagem de sobrevivência de cada concentração em cada triplicata, também indicada. Foi usada uma regra de três básica para calcular a porcentagem.

Na solução controle não há concentração do diclofenaco, apenas a água do mar restituída, para garantir que não a mortalidade ou imortalidade dos organismos-teste se dá exclusivamente pela contaminação do fármaco.

É esperado que a mortalidade seja maior em concentrações mais altas, porém os resultados do DFC foram inconsistentes e o percentual de sobrevivência não varia como o previsto.

Tabela 1 – Imortalidade das artêmias nos ensaios feitos com Diclofenaco de sódio

Concentrações utilizadas (µg/L)	1ª triplicata	Percentual de sobrevivência (%)	2ª triplicata	Percentual de vitalidade (%)	3ª triplicata	Percentual de sobrevivência (%)
	Média		Média		Média	
Solução controle	0	100	0	100	0	100
5	5	2	12	40	2	55
10	3	70	1	90	1	90
15	1	90	4	60	2	80
20	6,75	40	7	41,7	7,75	40,4
40	9	25	7	38,2	7,7	36,1
60	9	15,2	9,3	6,7	9,6	3,3
80	8,5	29,2	10,5	30	7,5	53,6
100	8	61,5	8	66,7	11	73,3

Fonte: Elaborada pelos autores (2023).

CONCLUSÃO

Devido aos resultados inconclusivos, ainda não foi encontrada a menor concentração possível que cause a morte de 100% dos organismos-teste, portanto não é possível definir

a concentração letal da CE_{50} e pretende-se realizar mais ensaios a fim de determinar com confiabilidade a CE_{50} , bem como a ação tóxica dos compostos para o organismo exposto.

Agradecimentos

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, à orientadora da Iniciação Científica Wanessa Algarte Ramsdorf e à Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação dedicam-se agradecimentos pelo apoio e oportunidade de pesquisa científica que foi realizada durante os meses de permanência no Laboratório de Ecotoxicologia. Adquiriram-se conhecimentos e práticas de notável importância no desenvolvimento acadêmico, profissional e social, demonstrando que o estudo é relevante para a evolução da nossa biossistema.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

INSTITUTO DE INVESTIGAÇÃO DAS PESCAS E DO MAR – IPIMAR. Disponível em: http://www.ipimar.pt/crips/estacao_piscicultura/artemia.html. Acesso em: 15 set. 2023.

SANTOS, Paulo Roberto dos. **Compostos de coordenação com zinco, ácido valproico, diclofenaco e ibuprofeno: uma nova abordagem para a obtenção de fármacos**. 2020. Tese de Doutorado em Biotecnologia – Universidade de Caxias do Sul

MILANI, Mariana G.; ZIOLLI, Roberta L. **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DE N(4)-PARATOLUILTIOSSEMICARBAZONAS E DE SEUS COMPLEXOS DE FE(III) E DE N-4- METIL-TIOSSEMICARBAZONAS E SEUS COMPLEXOS DE MN(II) EXPOSTOS À *Artemia sp.*** 2008. Relatório de finalização de PIBIC – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC Rio). Disponível em: https://www.puc-rio.br/ensinopesq/ccpg/pibic/relatorio_resumo2008/relatorios/ctc/qui/qui_marianma.pdf. Acesso em: 15 set. 2023

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT); Norma Técnica NBR 16530, **Ecotoxicologia aquática – toxicologia aguda – Método de ensaio com *Artemia sp* (Crustacea, Brachiopoda)**, Rio de Janeiro, 2016.

XIII Seminário de Extensão e Inovação
XXVIII Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR

Ciência, Tecnologia e Inovação, Inteligência Artificial, Desdobramento do Ensino, Pesquisa e Extensão
20 a 23 de novembro de 2023 - Campus Ponta Grossa, PR



FCAV/ UNESP. Disponível em:

<https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/fitossanidade/joaquimgoncalvesmachadoneto/10a.-toxic-aquat-peixes-04-e-05--out-2018.pdf>. Acesso em 23 out. 2023.