

## **AVALIAÇÃO DE TOXICIDADE EM EFLUENTES CONTAMINADOS COM MICROPOLUENTES EMERGENTES**

**Barbara da Silva Andrade<sup>1</sup>; Rafaela Pereira dos Santos <sup>2</sup>; Luan Gabriel Xavier de Souza<sup>3</sup>  
Neyliane Costa de Souza<sup>4</sup>; Marcia Ramos Luiz<sup>5</sup>.**

Universidade Estadual da Paraíba; barbarafn@gmail.com<sup>1</sup>; rafaelapsantos10@gmail.com<sup>2</sup>;  
luanxds@hotmail.com<sup>3</sup>; neylianecs@yahoo.com.br<sup>4</sup>; marciarluiz@yahoo.com.br<sup>5</sup>.

### **Resumo**

No mundo esta sendo reportada a presença de poluentes emergentes como fármacos e hormônios em estações de tratamento água e esgoto, além de outras matrizes ambientais. Avaliação da toxicidade por meio da toxicidade aguda em organismos aquáticos, traz a garantia do efluente ter ou não toxicidade após tratamento. Este trabalho visa realizar estudos de toxicidade ou ensaios ecotoxicológicos com organismos aquáticos, a *artemia salina*, para avaliar a toxicidade de poluentes emergentes (caféina e 17 $\alpha$ -etinilestradiol). Foram realizados uma série de testes, nos quais os organismos vivos colocados frente a compostos ou a substâncias químicas tinham suas reações estudadas. Inicialmente os testes foram empregados no esgoto sintético dopado com contaminantes após o tratamento mais eficaz de remoção definido. Para eclosão dos ovos foram preparados uma solução salina transferida para um aquário, mantendo-a com iluminação e aeração constante por 48 horas e, por último, a adição de ovos. Para avaliar os micropoluentes foram adicionados 2mL das diferentes concentrações dos compostos preparadas (1, 2, 5e 10 ppm) a serem testados em triplicata, após os ensaios de POA. A *Artemia salina* se apresentou como um bom indicador de toxicidade, além de constituir um teste simples e de baixo custo. A LC50 foi utilizada para demonstrar a concentração tóxica dos micropoluentes analisados, nos quais, não apresentaram toxicidade nas concentrações analisadas. Nos ensaios para toxicidade da caféina observaram-se que não houve a morte de 50% dos nauplios de *Artemia Salina*, nas doses testadas. Obtendo-se somente 43% em dose de 10ppm de caféina. E para os ensaios com o efluente sintético, não se observou efeitos significativos de toxicidade.

**PALAVRAS-CHAVES:** *Artemia salina*. Toxicidade. Micropoluentes.

### **Introdução**

Toxicidade é um termo atualmente muito debatido e questionado, dada a crescente necessidade de se conhecer os efeitos que marcadores químicos de poluição lançados no meio ambiente podem ter sobre o meio ambiente, indivíduos, populações e comunidades de organismos vivos, além de se conhecer como o homem pode ser afetado.

Ecotoxicologia pode ser entendida com a junção de ecologia e toxicidade. Ecologia é o estudo da interação dos seres vivos entre si e com o meio ambiente em que vivem; toxicologia é uma ciência que procura entender os tipos de efeitos causados por substâncias químicas, bioquímicas e os processos biológicos responsáveis por tais efeitos, levando em conta a sensibilidade de diferentes tipos de organismos à exposição de substâncias químicas e as relativas toxicidade de diferentes substâncias. O objetivo da ecotoxicologia seria então entender e prever efeitos de substâncias químicas em seres vivos e comunidades naturais (CHAPMAN, 2002).

Nos últimos anos, sob os efeitos da Revolução Industrial, uma imensa quantidade de substâncias químicas foram intencionalmente produzidas ou como subproduto para atender a necessidades alimentares e farmacêuticas da população. No mundo todo tem sido reportada a ocorrência de fármacos, hormônios, ftalatos dentre outros em efluentes de estações de tratamento de esgotos (ETE's), águas de abastecimento (ETA's) e em outras matrizes ambientais tais como solo, sedimento e águas naturais em concentrações na faixa de  $\mu\text{g/L}$  e  $\text{ng/L}$  (TERNES, 2001). Esses contaminantes conhecidos também como micropoluentes emergentes atingem as águas superficiais e de subsolo por uma variedade de mecanismos, incluindo o descarte direto de esgoto doméstico, o chorume de aterros sanitários ou na lixiviação de solos agrícolas contaminados e da incompleta remoção nas estações de tratamento de esgotos domésticos (ETE). Alguns marcadores químicos de águas residuais, que estão diretamente associados ao material fecal, como a cafeína e o coprostanol são os esteróis mais citados em estudos de determinação da contaminação por esgotos. Nos últimos anos tem aumentado o interesse científico neste grupo de substâncias químicas presentes no ambiente, e que podem interferir no sistema endócrino de humanos e outros animais, afetando a saúde, o crescimento e a reprodução. Alguns disruptores, alteradores ou desreguladores endócrinos apresentam potencial mutagênico, tais como: bifenóis, alquifenóis, organoclorados e ftalato (HESS-WILSON, 2006; BILA e DEZOTTI, 2007).

Maria e Moreira (2007) descreve a cafeína como um dos alcaloides de atividade biológicas mais ingeridos no planeta, onde apresenta ação farmacológica variada, provocando, dentre outros efeitos, alterações no sistema nervoso central, sistema cardiovascular e homeostase de cálcio. Portanto, existe um consenso na comunidade científica da ampla possibilidade de efeitos adversos que podem surgir à saúde humana e de outros organismos aquáticos com a presença de produtos farmacêuticos na água (SANTOS et al., 2010).

Atualmente, a disposição e aplicação de técnicas como os processos oxidativos avançados (POAs) tem recebido atenção especial, já que são considerados capazes de mineralizar substâncias orgânicas refratárias, presentes em efluentes industriais e domésticos, e podem mostrar uma significativa redução da toxicidade de misturas farmacêuticas. Apesar da eficiência nos tratamentos de efluentes convencionais quando se trata da redução de toxicidade destes, é notório uma deficiência quando atuam no efeito conjunto de determinados contaminantes, dificultando o controle de alguns parâmetros, havendo a necessidade de uma avaliação. Os testes de toxicidade se apresentam como uma forma alternativa e que fornece resultados confiáveis.

Portanto, afim de avaliar a toxicidade de micropoluentes emergentes como a cafeína e o etinilestradiol, este estudo buscou montar ensaios de toxicidade aguda utilizando, como organismo-testes a *artemia salina*.

## **Metodologia**

Os experimentos foram instalados e conduzidos no Laboratório de Saneamento Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba campus I, com coordenadas geográficas de 07°13'S e 35°52'W e altitude de 560 m, localizado na cidade de Campina Grande.

Utilizando como bioindicador a *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*) foi possível determinar a toxicidade aguda de efluente sintético. O efluente sintético empregado, foram preparados a partir de uma mistura dos seguintes compostos: sacarose, amido, extrato de carne, óleo de soja, NaCl, MgCl<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub> e detergente comercial dissolvidos em água de abastecimento público local.

Ensaio toxicológicos com bioindicadores, é uma técnica que consiste em uma série de testes, nos quais os organismos vivos são colocados frente a compostos ou a

substâncias químicas e suas reações estudadas. Os métodos empregados tiveram a finalidade de fornecer informações relativas aos efeitos tóxicos e principalmente para fornecer parâmetros capazes de avaliar riscos que podem ser maléficos ao homem. Os parâmetros utilizados, foram a DL 50 (dose necessária para matar 50% da população estudada) ou então a provável dose letal oral para homens. Para eclosão dos ovos foram preparados 2 litros de solução salina (Tabela 1) transferida para um aquário, mantendo-a com pH entre 6,0 – 7,0 e à temperatura de 26 °C - 28° C, com iluminação e aeração constante por 48 horas e, por último, a adição de 10 mg de ovos.

**Tabela 1** - Composição da solução salina para eclosão dos ovos de *Artemia salina*.

| <b>Composto</b>   | <b>Concentração (g.L-1 )</b> |
|-------------------|------------------------------|
| NaCl              | 26,30                        |
| KCl               | 0,75                         |
| CaCl <sub>2</sub> | 1,11                         |

Os ovos de *Artemias* foram eclodidos em água marinha sintética, sob iluminação artificial, preparada 48 horas antes. Após a eclosão dos ovos foram acrescentado 2,5 ml de água salina em cada placa de Petri para o controle (branco). Com o auxílio de uma pipeta de pasteur foram transferidas dez *artemias* para cada placa. Na avaliação dos micropoluentes adicionou-se 2mL das diferentes concentrações dos contaminantes cafeína e etinilestradiol preparadas, variando as concentrações entre 5 20 ppm, que foram testados em triplicata. Após os ensaios de POA, também foram testados os efeitos tóxicos do efluente.

## **Resultados e discussão**

O primeiro ensaio toxicológico foi realizado com a finalidade de encontrar a concentração dos contaminantes que promoveria a maior número de mortes de *artemias salina*, para isso utilizou-se uma solução de 1ppm e 10 ppm para cafeína e etinilestradiol. A utilização do crustáceo *Artemia* é uma espécie de fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico (CALOW, 1993). Estudos comprovam a ação tóxica de várias substâncias naturais ao crustáceo *Artemia* (RIOS, 1995; NASCIMENTO et al, 2008). Buscando analisar a toxicidade dos micropoluentes para testar sua ação contra moluscos sem interferir no processo ambiental, para avaliar o efeito tóxico.

Os resultados de ensaios de toxicidade para os efluentes, estão expressos nas Tabelas 2 e 3. Os valores de nauplios mortos para o esgoto sintético, antes dos ensaios, apresentou-se aproximadamente 30% em todos as repetições de análises.

**Tabela 2** – Número de Artemias vivas, sob a exposição dos contaminantes, etinilestradiol e cafeína, a 10ppm e 1 ppm

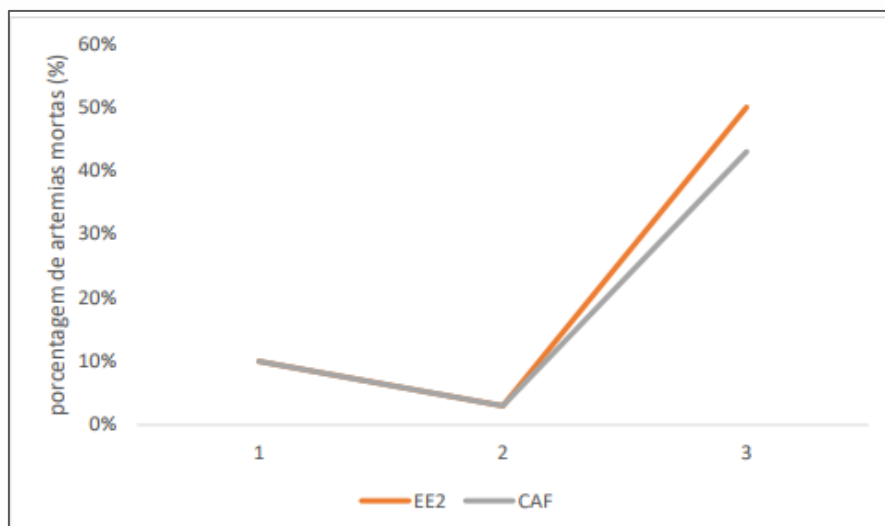
| Antes do ensaio** |                |                     | Números de artemias /contagem após 24hs |       |         |       |         |       |
|-------------------|----------------|---------------------|---|-------|---------|-------|---------|-------|
| Amostras          | artemias vivas | Concentração (mg/L) | Placa 1                                 |       | Placa 2 |       | Placa 3 |       |
|                   |                |                     | Vivo                                    | Morto | Vivo    | Morto | Vivo    | Morto |
| <b>Branco</b>     | 10             | 0                   | 8                                       | 2     | 9       | 1     | 10      | 0     |
| <b>EEA1</b>       | 10             | 1                   | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 9       | 0     |
| <b>EEA2</b>       | 10             | 10                  | 6                                       | 4     | 5       | 5     | 4       | 6     |
| <b>CAF1</b>       | 10             | 1                   | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 9       | 0     |
| <b>CAF2</b>       | 10             | 10                  | 10                                      | 0     | 5       | 5     | 2       | 8     |

**Tabela 3** – Ensaio de toxicidade de efluentes sintéticos com adição de cafeína e etinilestradiol.

| Antes do ensaio |          |              | Números de artemias /contagem após 24hs |       |         |       |         |       |
|-----------------|----------|--------------|---|-------|---------|-------|---------|-------|
| Amostras        | Artemias | Conc. (mg/L) | Placa 1                                 |       | Placa 2 |       | Placa 3 |       |
|                 | Vivas    |              | Vivo                                    | Morto | Vivo    | Morto | Vivo    | Morto |
| <b>Branco 1</b> | 10       | 0            | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 8       | 2     |
| <b>Bruta 1</b>  | 10       | 2,5          | 10                                      | 0     | 5       | 5     | 5       | 5     |
| <b>Branco 2</b> | 10       | 0            | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 10      | 0     |
| <b>Bruta 2</b>  | 10       | 2,5          | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 7       | 3     |
| <b>Branco 3</b> | 10       | 0            | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 10      | 0     |
| <b>Bruta 3</b>  | 10       | 2,5          | 10                                      | 0     | 10      | 0     | 7       | 3     |
| <b>Branco 4</b> | 10       | 0            | 6                                       | 4     | 10      | 0     | 5       | 5     |
| <b>Bruta 4</b>  | 10       | 2,5          | 9                                       | 1     | 7       | 3     | 8       | 2     |

A Figura 1 mostra um gráfico com a relação de organismos mortos com a dose de etinilestradiol e cafeína em ppm (mg/L).

**Figura 1** - Porcentagem de náuplios de *Artemia salina* mortos em relação ao aumento de concentração do etinilestradiol (EE2) em ppm.



Legenda: 1-branco; 2- 1ppm; 3- 10ppm.

A DL50 (dose letal do EE2 para 50% da população) é observada a partir de 10 ppm da concentração de etinilestradiol. As concentrações testadas não apresentaram toxicidade frente a *Artemia salina*, uma vez que foi obtido a DL50 > 1000 ppm. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de DL50 abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina* (MEYER et al., 1982). O motivo que explica a observação da baixa toxicidade do etinilestradiol sobre a solução salina é o fato de este hormônio sintético ser comumente utilizada em medicamentos contraceptivos em baixas concentrações.

Nos ensaios para toxicidade da cafeína observaram-se que não houve a morte de 50% dos náuplios de *Artemia Salina*, nas doses testadas. Obtendo-se somente 43% em dose de 10ppm de cafeína.

## **Conclusão**

A *Artemia salina* se apresentou como um bom indicador de toxicidade, além de constituir um teste simples e de baixo custo. A LC50 foi utilizada para demonstrar a concentração tóxica dos micropoluentes analisados, nos quais, não apresentaram toxicidade nas concentrações analisadas. São necessários outros ensaios com concentrações superiores das estudadas, e utilização de outros tipos de micropoluentes. Nos ensaios para toxicidade da cafeína observaram-se que não houve a morte de 50% dos nauplios de *Artemia Salina*, nas doses testadas. Obtendo-se somente 43% em dose de 10ppm de cafeína. E para os ensaios com o efluente sintético, não se observou efeitos significativos de toxicidade.

## **Referências**

BILA, D. M., E DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. *Química nova*, v.30, n.3, p. 651., 2007.

CHAPMAN, P. M. Emerging substances — Emerging problems? *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.25, n.6, p.1445-1447. 2006. \_\_\_\_\_. Integrating toxicology and ecology: putting the "eco" into ecotoxicology. *Marine Pollution Bulletin*, v.44, p.7-15. 2002

LENHARD, D. C.; TAVARES, C.R. G.; DOS SANTOS, A. Z.; VOLPE, A. L. S. Fotooxidação catalítica com dióxido de titânio aplicada ao tratamento de efluentes têxteis em escala semi-piloto: avaliação da redução de cor, da matéria orgânica e da toxicidade. XX Congresso de engenharia química - COBEC, Florianópolis, 2014.

OLIVEIRA, D. A. F.; BARBOSA, R. S. S; OKUYAMA, C. E. Avaliação toxicológica de compostos bioativos e insumos Farmacêuticos. UNIBAN, SP, I jornada de iniciação científica e tecnológica, 2016.

TERNES, T. A.; JOSS, A., Eds. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management: IWA Publishing, p.453ed. 2006.