

TOXICIDADE DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM FORMALDEÍDO ATRAVÉS DE BIOENSAIOS COM MICROCRUSTÁCEOS

Cléo Kaluaná Ferreira de Sousa ¹
Marizabel da Silva Ramos ²
Marcia Ramos Luiz ³
Neyliane Costa de Souza ⁴

1. INTRODUÇÃO

A crescente produção de insumos necessários para manutenção da qualidade de vida tem aumentado consequentemente a quantidade de resíduos gerados, com alto poder de contaminação. Segundo Costa et al. (2008), as substâncias quando despejadas no ambiente aquático sofrem diversos processos de transformação, dentro os principais estão a hidrólise, a fotólise, a complexação e a biodegradação. Esses processos são importantes porque determinam a persistência dos contaminantes no ambiente.

Os efluentes industriais, quando não tratados corretamente, tornam-se potencialmente nocivos ao ambiente, devido às diversas substâncias utilizadas no processo. Os laboratórios das instituições de ensino, mesmo não sendo grandes geradores de resíduo químico, tem seu uso quase diário em atividades executadas pelos alunos, tornando-se inquestionável a geração de resíduos, mesmo que em pequenas quantidades (SOUZA, 2014).

O formaldeído, é considerado um poluente recalcitrante, usado como matéria-prima em muitas indústrias, como desinfetante na área da saúde e em laboratórios químicos. Segundo Gonzalez-Gil et al. (2012), o formaldeído é geralmente encontrado em águas residuárias em concentrações de até 10.000 mg.L⁻¹, porém, já a 5 mg.L⁻¹ apresenta toxicidade a diversos tipos de organismos.

Várias pesquisas revelam a necessidade de redução da toxicidade em efluentes industriais através da aplicação de vários tipos de tratamento, no entanto, ainda é preciso avaliar os danos que esse efluente causa a biota, mesmo que seus dados físico-químicos sejam conhecidos.

Os testes de toxicidade têm papel fundamental no estudo do impacto das substâncias químicas no meio ambiente natural. A Resolução CONAMA nº 430 de 2011, define os testes de toxicidade como métodos utilizados para detectar e avaliar a capacidade de um agente tóxico provocar efeito nocivo, utilizando bioindicadores dos grandes grupos de uma cadeia ecológica.

Diversos testes de toxicidade podem ser realizados utilizando organismos de diferentes níveis tróficos. Neste trabalho, foi utilizado o ensaio toxicológico agudo-letal com o microcrustáceo *Artemia salina*, desenvolvido por Meyer et. al. (1982) para detectar compostos bioativos em extratos vegetais.

O microcrustáceo *Artemia salina* (*Branchipus stagnalis*) é um organismo muito utilizado como alimento para peixes, pertence ao filo Arthropoda, classe Crustácea, subclasse

¹ Graduanda do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, cleoksousa@gmail.com;

² Graduanda pelo Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, marizabel.sramos.7@gmail.com;

³ Doutora pelo Curso de Engenharia Mecânica da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, marciarluiz@gmail.com;

⁴ Professor orientador: Doutora em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará - UFC, professora do departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental - UEPB, neylianecs@yahoo.com.br.

Branquiopoda, ordem *Anostraca*, família *Artemidae*. O teste com *Artemia salina* consiste na exposição dos náuplios nas fases II ou III durante 24 e/ou 48 horas a concentrações crescentes da amostra que se pretende testar com análise de organismos mortos ao final do período de exposição (VEIGA e VITAL, 2002; CETESB, 1987).

Os ensaios toxicológicos utilizando-se como bioindicador *Artemia salina* têm sido largamente utilizados, por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório e de ampla distribuição, podendo ser adquirido por um baixo custo em lojas de artigos para aquários.

Dessa forma, este estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do composto recalitrante (formaldeído), nos ensaios toxicológicos realizados com *Artemia salina*, através da observação dos danos causados ao organismo teste e da concentração do composto que provoca letalidade para 50% da população (CL50). Assim, contribuindo para avaliar a eficiência do tratamento de efluentes, servindo de base para o controle efetivo dessas substâncias nas águas, já que, ainda nos dias atuais há muitas lacunas da caracterização e redução da toxicidade em efluentes no Brasil.

2. METODOLOGIA

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Ciências Ambientais (LAPECA), localizado no Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

A toxicidade aguda sobre *Artemia salina* foi realizado através da adaptação da metodologia de Meyer et al. (1982).

Para a eclosão dos ovos foram preparados 2 litros de solução salina transferida para um aquário, mantida com um pH entre 6,0-7,0 e à temperatura de 26-28°C, adicionou-se 10 mg de ovos, com iluminação e aeração constante por 48 horas. Após a eclosão dos ovos, adicionou-se 10 mL de uma solução de Spirulina (0,5g/100mL) como alimento.

Para realização dos ensaios toxicológicos, foram transferidas 10 náuplios de *Artemia salina* para placas petri, contendo solução salina e formaldeído (10%), possibilitando concentrações finais de 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500 e 800 ppm. O ensaio foi realizado em triplicata, contendo um controle somente com água salina, sendo realizada a contagem dos animais vivos e mortos após 24 horas.

Os dados dos náuplios de *Artemia salina* mortos em relação ao aumento das concentrações do formaldeído foi ajustado para estimar a CL50 de acordo com o método de Probitos, utilizando o software Statística 10.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Formaldeído

O formaldeído está enquadrado entre as 25 substâncias químicas mais abundantemente produzidas no mundo, devendo-se essencialmente a sua elevada reatividade, ausência de cor, a sua pureza no formato comercial e, ainda, ao seu baixo custo. É um composto líquido incolor, com odor forte e irritante, solúvel em água e altamente reativo, além de possuir moderada flamabilidade (VERONEZ, 2010).

A organização mundial da saúde (OMS) o considera como uma substância cancerígena para humanos, sendo enquadrado no grupo 1, com fortes evidências de carcinogênese em humanos e animais.

Além de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, o formol pode ser encontrado em efluentes de origem laboratorial, seja ele um laboratório químico ou de anatomia.

O formol é uma substância altamente tóxica e o contato com ela, seja por ingestão, inalação ou contato direto com a pele pode ter resultados irreversíveis, inclusive morte. Pode ser caracterizado como um poluente orgânico persistente, provocando ações de carcinogenicidade para os seres humanos e toxicidade para microrganismos aeróbios e anaeróbios (BELO apud VIEIRA et al., 2013).

Segundo Lu & Hegemann (1998), o efluente gerado a partir do uso como conservante pode conter até 10% em volume de formol, o que representa uma concentração de 40,33 g.L⁻¹. Esse efluente de alta concentração, pode ser tóxico, não pode ser tratado por processos convencionais utilizados em estações de tratamento de afluentes, como sistemas biológicos. O formaldeído reage com o DNA, o RNA e as proteínas, danificando as células, o que pode causar a morte ou inibir as atividades dos microrganismos (apud ARAÚJO, 2013).

3.2 Ecotoxicidade

Segundo Rand (1995), o conceito de Ecotoxicologia foi proposto por Blaise em 1984, que significa a junção da ecologia com a toxicologia e, portanto, estuda os efeitos dos poluentes aos organismos e como esses interagem em seus habitats. Essa é uma ciência multidisciplinar, que se faz necessária à compreensão da Biologia, Ecologia, Química, Bioquímica, Fisiologia, Estatística, Oceanografia, Limnologia, Toxicologia, etc. Tendo como base as análises estatísticas para a comprovação dos dados em diferentes condições ambientais (apud COITINHO et al., 2011).

A determinação da toxicidade (ou da perda dela) em diferentes fases dos tratamentos com bioensaios de toxicidade aguda, utilizando diferentes organismos, é uma das formas de monitorar os diferentes processos de tratamento de resíduos aquosos (FÉRNANDEZ-ALBA et al. 2002, apud CUNHA, 2011).

A maioria dos experimentos que visam testar a toxicidade utilizam modelos baseados em ratos em crescimento, apresentando desvantagens para o método como o gasto de quantidade de amostra e o custo elevado. (RIOS & RECIO 2005, apud ABRANTES, 2017).

A *Artemia salina*, é uma espécie utilizada nos testes de toxicidade devido à capacidade de formar cistos dormentes, fornecendo desse modo material biológico que pode ser armazenado durante longos períodos de tempo sem perda de viabilidade e necessidade de se manterem culturas contínuas do organismo teste. Sendo de fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico (LIMA et al., 2009; CALOW, 1993).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados sobre toxicidade com *Artemia salina* em diferentes concentrações de formaldeído permitiram traçar em qual concentração da solução teste estava o maior número de organismos mortos.

Nas amostras de controle, contendo apenas solução salina, todos os organismos permaneceram vivos após o tempo de contato de 24 horas. Assim como nas amostras contendo formaldeído a 5, 10 e 20 ppm.

Já nas amostras contendo formaldeído a 50 ppm, houve uma média de 7,0 organismos mortos. Percebeu-se que nas concentrações de formaldeído 100, 200, 500 e 800 ppm não houve nenhum organismo vivo.

Segundo Lotfy & Rashed (2002), as águas residuárias que podem conter uma quantidade de formaldeído significativa comprometem o tratamento biológico, por possuir caráter inibitório dos processos biológicos de tratamento. Logo, percebe-se que quanto maior o valor de concentração, mais tóxico é o composto frente a um organismo-teste, e maior é sua atividade citotóxica.

Com os dados das *Artemias salinas* mortas foi determinada a concentração letal do poluente para 50% da população (CL50) igual a 64,83 ppm. Dessa forma, é necessário fazer-se ensaios com concentrações menores entre 50 e 60 ppm para resultados mais precisos da concentração de formaldeído tóxica para 50% dos organismos.

Hohreiter & Rigg (2001), avaliando estudos de toxicidade com formaldeído em microcrustáceos, encontraram valor médio de CL50-48h de 16 mg.L⁻¹ de formaldeído para *Daphnia magna* e 5,8 mg.L⁻¹ para *Daphnia pulex* (apud NOUR et al., 2014).

Percebe-se então que todos apresentam efeitos da toxicidade do composto, porém, há uma grande variação dos valores de CL50 do formaldeído em organismos do mesmo nível trófico. Isso se explica por diversos fatores, como o período de cultura para cada organismo e o tempo de exposição ao composto, mostrando que apesar de estarem no mesmo nível trófico, cada um possui diferentes respostas biológicas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Levando em consideração a grande demanda por compostos recalcitrantes, como o formaldeído, e o despejo deles em corpos hídricos, os testes de toxicidade são de grande importância juntamente com as análises físico-químicas, para a avaliação da eficiência do tratamento de efluentes.

Os resultados da sensibilidade dos náuplios de *Artemia salina* ao formaldeído foram satisfatórios, a CL50 em torno de 64,83 comprovou a ocorrência de mortes em náuplios expostos às concentrações de formol acima de 50 ppm.

A quantificação da toxicidade utilizando bioensaios com o microcrustáceo *Artemia salina* foi eficaz, podendo ser amplamente aplicada em amostras ambientais para verificação, pois se trata de um método de baixo custo, fácil aplicação, que não requer métodos assépticos e equipamentos especiais.

Palavras-chave: Efluentes; Ensaio toxicológico; *Artemia salina*; Formaldeído.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, Jaime Antonio. **Avaliação de atividade antimicrobiana e prospecção fitoquímica de *Eugenia florida* DC.** 2017. 100 f. Dissertação (Mestrado em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica) – Instituto de Tecnologia em Fármacos (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, 2017.

ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n.2, p. 143- 148, 2008.

ARAÚJO, M. B. de. **Avaliação da degradação fotocatalítica de soluções de formol e da geração de H₂ utilizando nanotubos de TiO₂.** 2013. 53f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2013.

BELTRAME, Leocádia Terezinha Cordeiro. **Caracterização de Efluente Têxtil e Proposta de Tratamento**. 2000. 179 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Resolução CONAMA nº 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre condições e padrões de lançamento de efluentes. Publicada no Diário Oficial da União em 16/11/2011. Brasília, DF.

CALOW, P. Marine and Estuarine invertebrate toxicity tests. **Handbook in cytotoxicology**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, v. 1, p. 1-5, 1993.

CETESB. Norma CETESB, L5.250: Água do mar - teste de toxicidade crônica de curta duração com *Lytechinus variegatus*, Lamark, 1816 (Echinodermata: Echinoidea). Método de Ensaio. São Paulo. 1999.

COSTA, A.; FREIRA, P.; CRUZ, J.V. **Atlas hidrogeológico das águas minerais dos Açores**. Seminário Recursos Geológicos, Ambiente e Ordenamento do Território, UTAD, 5, 2008, Vila Real. p. 192-199.

COITINHO, L. B.; SILVA, H. X.; DA SILVA, K. T.; BARRETO, K. G.; OLIVEIRA, M. M. Aplicação de testes ecotoxicológicos com microcrustáceos no laboratório de monitoramento das águas do rio Paraíba do Sul. III ENCONTRO NACIONAL DOS NUCLEOS DE PESQUISA APLICADO EM PESCA E AQUICULTURA. RJ, 2011.

CUNHA, Bruna Müller da. **Avaliação ecotoxicológica de distintos tipos de efluentes mediante ensaios de toxicidade aguda utilizando *Artemia Salina* e *Lactuca sativa***. 2011. 79f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

GONZALEZ-GIL, G.; KLEEREBEZEM, R.; LETTINGA, G. **Conversion e Toxicity Characterisitics of formaldeyde in acetoclastic methanogenic sludge**. Biotechnology e bioengineering, v. 79, n.3, 2002.

LIMA, J. M. et al. **Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina***. Revista Planta Daninha, v. 27, n. 1, p. 7-11, 2009.

LOTFY, H. R.; RASHED, I. G. A method for treating wastewater containing formaldehyde. **Journal of the International Water Association**, v. 36, n. 3, p. 633-637, 2002.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., McI. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982.

NOUR, E. A. A. et al. **Tratamento biológico de formaldeído: toxicidade residual monitorada por bioensaios com *Daphnia similis***. Revista Ecotoxicology and Environmental Contamination, v. 09, n. 1, p. 77-85, 2014.

RIOS, F. J. B. **Digestibilidade in vitro e toxicidade de lectinas vegetais para náuplios de *Artemia sp.*** 1995. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1995.

SOARES, A.F.S.; LEÃO, M. N. D. Contaminação dos mananciais por micropoluentes e a precária remoção desses contaminantes nos tratamentos convencionais de água para potabilização. **Doutrina internacional - ensaio**, v. 14, n. 24, p. 36-85, 2015.

SOUZA, Josy Suyane de Brito. **Estudos preliminares para o gerenciamento nos laboratórios de ensino de Química: um caminho para a sustentabilidade**. 2014. 15f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) – Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2014.

VEIGA, L. F.; VITAL, N. Testes de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp. **Nipper M. Métodos de ecotoxicologia marinha**. São Paulo: Edit. Artes Gráficas, p. 111-22, 2002.

VERONEZ D.A.L., FARIAS E.L.P, FRAGA R., FREITAS R.S., PETERSEN M.L., SILVEIRA J.R.P. **Potencial de risco para a saúde ocupacional de docentes, pesquisadores e técnicos de anatomia expostos ao formaldeído**. Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente. 2010.