

**IV-058 – USO DA ECOTOXICOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA AVALIAR
A TOXICIDADE DE FLOCULANTE UTILIZADO NO TRATAMENTO DE ÁGUA
PARA ABASTECIMENTO**

Bárbara Werle Nunes⁽¹⁾

Bióloga pela Universidade Luterana do Brasil. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAmb) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Doutoranda em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental no Programa de Pós Graduação em Engenharia Civil (PPGEC) na UFSM.

Elvis Carissimi⁽²⁾

Engenheiro Civil pela Universidade de Passo Fundo. Mestre e Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais (PPGE3M) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e Professor do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (PPGEC-UFSM) e do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEAmb-UFSM).

Maria Angélica Oliveira⁽³⁾

Bióloga pela Universidade de Santa Cruz do Sul. Mestre em Ecologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Doutora em Aquatic Biology pela University of Hull, Inglaterra. Professora Associada da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) no Departamento de Biologia.

Keila Fernanda Soares Hedlund⁽⁴⁾

Engenheira Ambiental e Sanitária pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (PPGEC) da UFSM.

Suzan Zilli⁽⁵⁾

Engenheira Ambiental pela Universidade Luterana do Brasil. Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil (PPGEC) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Agente de tratamento de água/esgoto da Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN).

Endereço⁽¹⁾: Avenida Roraima, 1000 – Cidade Universitária. Bairro Camobi – Santa Maria - RS - CEP: 97105-900 - Brasil - Tel: (55) 32208000 ramal 2495 - e-mail: babiwerle@gmail.com

RESUMO

Os efeitos da contaminação ambiental por substâncias tóxicas são extremamente relevantes para a ecotoxicologia. Os ecossistemas aquáticos são muito propensos à contaminação, sendo alvos de uma diversidade de elementos e compostos que dependendo da concentração e do tempo de exposição, podem causar severos danos aos organismos. Dentro dessas substâncias, destaca-se a acrilamida, um monômero industrial que apresenta risco carcinogênico e causa alterações no sistema endócrino dos seres vivos. A acrilamida possui uma infinidade de aplicações, entre eles destacam-se: a construção civil; como base para poliacrilamidas, que são usadas como floculantes no tratamento de águas para abastecimento e águas residuais, nas indústrias de cosméticos, papel, têxtil, em laboratórios. Também se forma a partir de alimentos fritos ou cozidos a altas temperaturas e na queima do tabaco. Sua forma de absorção em animais e seres humanos se dá através da ingestão, inalação ou absorção da pele. Por esse motivo a Portaria 2914/2011 estabelece um limite máximo de $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ de acrilamida para água potável. Contudo, não há evidências na literatura sobre a detecção da acrilamida nas águas brasileiras para consumo humano. A rápida e precisa avaliação da toxicidade da água é uma importante ferramenta para a segurança ambiental, como os organismos fitoplanctônicos podem ser prejudicados pela ação de substâncias tóxicas e os resultados dessa exposição se refletem sobre a produtividade primária da cadeia alimentar aquática, estes organismos são considerados muito úteis para estimar a toxicidade de micropoluentes. O objetivo deste estudo foi avaliar os possíveis efeitos tóxicos da acrilamida sobre parâmetros fisiológicos da clorófitica *Desmodesmus quadricauda*. As algas foram cultivadas em meio WC, sob condições controladas de temperatura ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), intensidade luminosa de 4400 lux e fotoperíodo (12:12 h claro:escuro). As células em fase de crescimento exponencial foram expostas por 72h a distintas concentrações de acrilamida, os resultados foram expressos através da CE_{50} , que consiste na concentração que causa a inibição de 50% do crescimento algáceo em comparação ao grupo controle. A metodologia de análise aplicada foi a contagem microscópica, monitorada durante todo o período de exposição. Os resultados indicaram que a CE_{50} da acrilamida para a espécie *Desmodesmus quadricauda* é de $5,88 \text{ mg.L}^{-1}$.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicidade, acrilamida, desreguladores endócrinos, microalgas.

INTRODUÇÃO

A população de um modo geral faz uso de diversos produtos químicos no nosso cotidiano, seja com a higiene pessoal, limpeza, medicamentos, alimentos, entre tantos outros. O uso indiscriminado desses produtos pode levar ao acúmulo de micropoluentes no meio ambiente. O fato é que a exposição prolongada a esses compostos e seus subprodutos que interagem com os sistemas naturais e com a saúde humana, pode acarretar em prejuízos a saúde dos organismos vivos.

A água mais do que um insumo indispensável à produção e um recurso estratégico ao desenvolvimento econômico, é vital para a manutenção dos ciclos biológicos, geológicos e químicos que mantem em equilíbrio os ecossistemas (CAMARGO, 2002). Portanto este recurso se torna crucial não apenas quando consideramos o aspecto quantitativo dos recursos hídricos (demanda X oferta), como também a qualidade da água para o uso ao qual for destinada. Dessa maneira, as intervenções humanas precisam ser pensadas de maneira estratégica, de modo que exista uma gestão do uso da bacia hidrográfica, protegendo áreas importantes sobre o ponto de vista ecológico e dando o tratamento adequado às áreas mais sensíveis a poluição, como áreas urbanas, industriais e agrícolas.

Diante dessa problemática, são utilizados tratamentos físicos e químicos para o tratamento da água e dos efluentes. O tratamento da água para abastecimento pode ser convencional ou avançado, dependendo da qualidade da água bruta a ser tratada. Estas metodologias compreendem diversas etapas que utilizam inúmeros reagentes. Estudos realizados pelo Ministério da Saúde, relatados em um relatório elaborado pela FUNASA no ano de 2007, alertam sobre a formação de substâncias carcinogênicas e mutagênicas resultantes dos subprodutos gerados em decorrência do processo de degradação dos elementos indesejados na água, especialmente na remoção de matéria orgânica e patógenos. Os mais conhecidos são os compostos organoclorados e os trihalometanos (THMs) resultantes das reações do cloro com matéria orgânica.

A acrilamida (C_3H_5NO) é um monômero solúvel em água com uma infinidade de aplicações químicas e industriais, na sua forma de polímero, denominada poliacrilamida, pode ser utilizada como floculante no processo de tratamento da água. No entanto, o potencial carcinogênico da acrilamida e seu comportamento de desregulador endócrino nos seres vivos é um fator desfavorável ao seu uso. Considerando o risco associado ao uso da acrilamida, a portaria 2.914/2011 do Ministério da Saúde, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, estabelece um limite máximo de $0,5 \mu g.L^{-1}$ de acrilamida para a água potável. Porém não são encontradas informações da detecção e do monitoramento dessa substância na água de abastecimento público.

A ecotoxicologia, ciência que estuda a toxicidade de substâncias químicas em organismos vivos, é indicada para identificar e diagnosticar substâncias possivelmente tóxicas e seus efeitos no meio ambiente. As algas são importantes bioindicadores da qualidade da água, pois representam a produção primária de um ecossistema aquático, influenciando em todo o ciclo da cadeia alimentar. Por esse motivo, diversas pesquisas como as de Brayner (2011), Thomas & Hand (2011) e Kováčik et. al (2015) já foram desenvolvidas empregando algas como indicadores da poluição aquática. O princípio do ensaio consiste em expor uma suspensão de algas com densidade conhecida, juntamente com um meio nutriente, a diversas diluições da substância a ser testada, por um período de 72 horas, sob condições pré-estabelecidas. O resultado é determinado pela comparação da reprodução das algas nas diluições contendo o reagente, em relação a um controle aonde não foi adicionado nenhum tratamento.

Perante a falta de informações acerca das concentrações de acrilamida encontradas na água potável e seu risco potencial a saúde humana, o principal objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos toxicológicos da acrilamida em uma clorofícea através de ensaios ecotoxicológicos. Os resultados podem auxiliar na compreensão do comportamento da acrilamida em distintos organismos e sua interação com o meio ambiente, fornecendo subsídios para a quantificação das concentrações de acrilamida que representam risco para a comunidade aquática e consequentemente a saúde humana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos segundo metodologia proposta por APHA (2005), OECD/OCDE (2011) e ABNT (2005) com adaptações. O princípio do teste consiste em expor uma suspensão de algas com densidade conhecida a diferentes concentrações de uma substância tóxica, durante um período de 72 horas sob condições pré-estabelecidas. O resultado é expresso através da inibição do crescimento da biomassa algácea em relação ao controle, sob as mesmas condições de ensaio.

Para a realização dos testes foram utilizadas culturas axênicas e monoalgais de *Desmodesmus quadricauda*, doadas pelo Departamento de Biologia da Universidade Federal de Rio Grande. As culturas foram mantidas em meio de cultura Water Culture – WC com ajuste de pH para 7,0 através de HNO₃ ou NaOH, sob temperatura de 24 ± 2 °C e regime de iluminação de 12 horas/dia. Para a obtenção de indivíduos de *Desmodesmus* em fase exponencial, a cultura-estoque foi iniciada quatro dias antes da realização do ensaio e mantida sob as mesmas condições de temperatura, iluminação e agitação do ensaio definitivo.

Os testes foram realizados em triplicata e após o preparo dos frascos do grupo tratado com acrilamida e do grupo controle os mesmos foram instalados em uma incubadora a 24 ± 2 °C, com iluminação contínua de 4500 lux e agitação constante, por um período de 72 horas. A cada 24 horas foram retiradas alíquotas de 12 ml por frasco, fixadas em lugol para análise da biomassa algácea, realizada através de contagem microscópica com o auxílio de uma câmara de contagem de Sedgewick-Rafter.

Como o objetivo de um teste de toxicidade crônica com algas é obter a concentração que iniba 50% do seu crescimento, testaram-se oito concentrações de acrilamida, que variaram de 2 a 15mg/L. Após o resultado das contagens microscópicas, realizou-se o cálculo da taxa de crescimento específico/dia⁻¹ para cada concentração a partir da Equação 01:

$$\text{Equação (01): } \mu_{i-j} = \frac{\ln X_j - \ln X_i}{t_j - t_i} (\text{dia}^{-1})$$

Onde:

μ_{i-j} = corresponde a taxa de crescimento específica no tempo i – j;

X_i = a biomassa no tempo i;

X_j = a biomassa no tempo j.

Munidos das taxas de crescimento específico dia⁻¹ para cada período do experimento (0-24h, 24-48h, 48-72h) calculou-se a percentagem média de inibição de crescimento para cada concentração através da Equação 02:

$$\text{Equação (02): } \%I_r = \frac{\mu_c - \mu_r}{\mu_c} \times 100$$

Onde:

$\%I_r$ = percentual de inibição médio da taxa de crescimento específico;

μ_c = valor médio da taxa de crescimento específico no grupo controle;

μ_r = taxa média de crescimento específico para cada tratamento.

A partir dos resultados do percentual de inibição para cada concentração de acrilamida, foi calculada a CE₅₀ com o auxílio do programa Trimmed Spearman-Kärber. Replicaram-se os testes com o valor da CE₅₀ até obter um número amostral considerável. Para avaliar se as diferenças apresentadas entre o grupo controle e o grupo tratado com acrilamida foram significativas, os resultados obtidos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis pelo método de Dunn. A análise estatística foi realizada através do software BioEstat 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da CE_{50}

Para o cálculo da CE_{50} da acrilamida foram testadas oito concentrações que variaram de 2 a 15 $mg.L^{-1}$. A Figura 01 apresenta as curvas de densidade celular, para cada concentração no decorrer do experimento, baseado nos resultados das contagens celulares realizados na câmara de Sedgewick Rafter. Os resultados mostram que há uma severa inibição do crescimento a partir da concentração de 4,0 $mg.L^{-1}$.

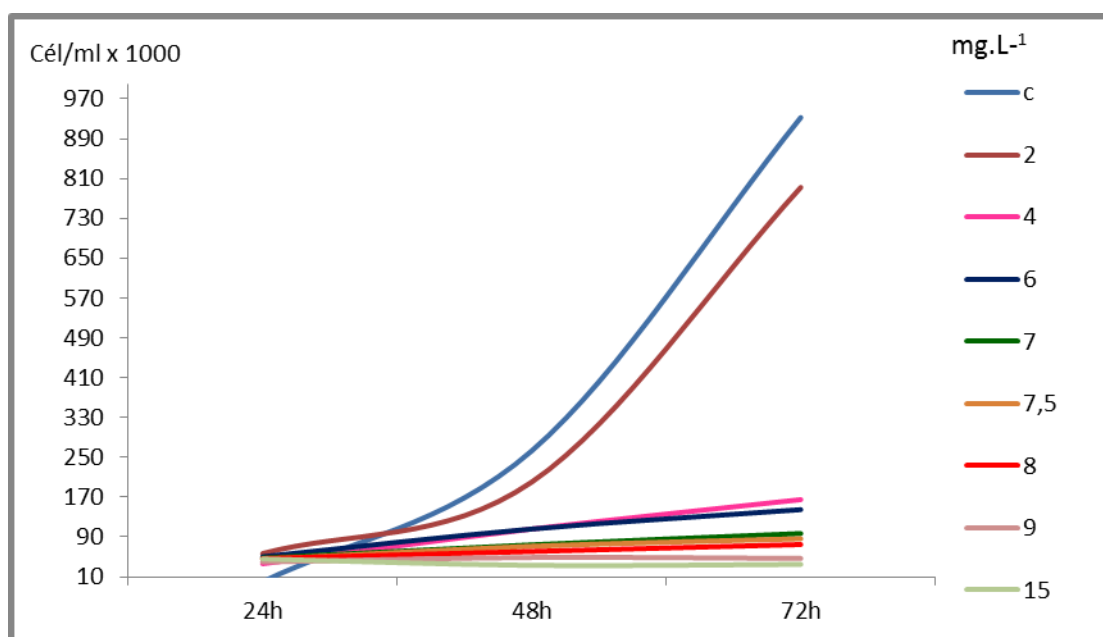


Figura 1 - Densidade Celular do grupo controle e das distintas concentrações testadas de acrilamida, durante as três fases do experimento.

Dispondo dos dados de densidade celular das 24, 48 e 72 horas, foram calculadas as taxas de crescimento específico para cada concentração testada durante os três períodos avaliados. Comparando os valores obtidos para cada concentração em relação à taxa de crescimento específico do grupo controle, calculou-se o percentual de inibição de crescimento.

Tabela 1– Taxa de crescimento específico e percentagem de inibição de crescimento para cada concentração de acrilamida testada.

Conc. Acrilamida (mg.L ⁻¹)	24h Dens. Cel.	Taxa Cresc. Esp. (0-24h)	48h Dens. Cel.	Taxa Cresc. Esp. (24-48h)	72h Dens. Cel.	Taxa Cresc. Esp. (48-72h)	Taxa Média (0-3 Dias)	Percentagem de inibição do cresc. (%)
2,0	56700	1.418	200250	1.26	792250	1.38	1.35	3.87
4,0	36350	0.974	106000	1.07	165000	0.44	0.83	41.1
6,0	50500	1.303	106125	0.74	144916.7	0.31	0.79	44.1
7,0	47700	1.245	74375	0.44	96833.33	0.26	0.65	53.7
7,5	45350	1.195	71250	0.45	86416.67	0.19	0.61	56.4
8,0	46750	1.225	60937.5	0.27	74833.33	0.21	0.57	59.8
9,0	39850	1.066	48875	0.20	46812.5	-0.04	0.41	70.9
15	45850	1.206	32937.5	-0.33	34937.5	0.06	0.31	77.9
Controle	66500	1.578	263062.5	1.38	932750	1.27	1.41	0.00

A partir dos cálculos do percentual de inibição de crescimento das concentrações, em comparação ao resultado do controle, onde não se observou nenhuma inibição de crescimento, calculou-se a CE₅₀ da acrilamida com o auxílio do programa Trimmed Spearman- Karber - TSK. Os resultados obtidos demonstraram que a CE₅₀ da acrilamida para a Clorofícea *Desmodesmus quadricauda* é de 5,88 mg.L⁻¹ (5,23 – 6,63). Quando comparado a outros trabalhos, como o de TAKAHASHI (2005), que testou a toxicidade da acrilamida na clorofícea *Chlorella kessleri* e obteve uma CE₅₀ de 7,8 mg.L⁻¹. Evidencia-se a alta sensibilidade do organismo testado, que mesmo quando submetido a concentrações inferiores ao relatado na literatura, apresentou uma inibição no crescimento significativa.

Crescimento Populacional

Diante da CE₅₀ de 5,88 mg.L⁻¹ foram realizados 8 testes em triplicata para avaliar o comportamento da microalga *Desmodesmus quadricauda*. As triplicatas foram analisadas e os valores que apresentaram um coeficiente de variação superior a 30% foram descartados e substituídos pela média dos dois valores restantes. Os resultados das contagens celulares são apresentados na Figura 02.

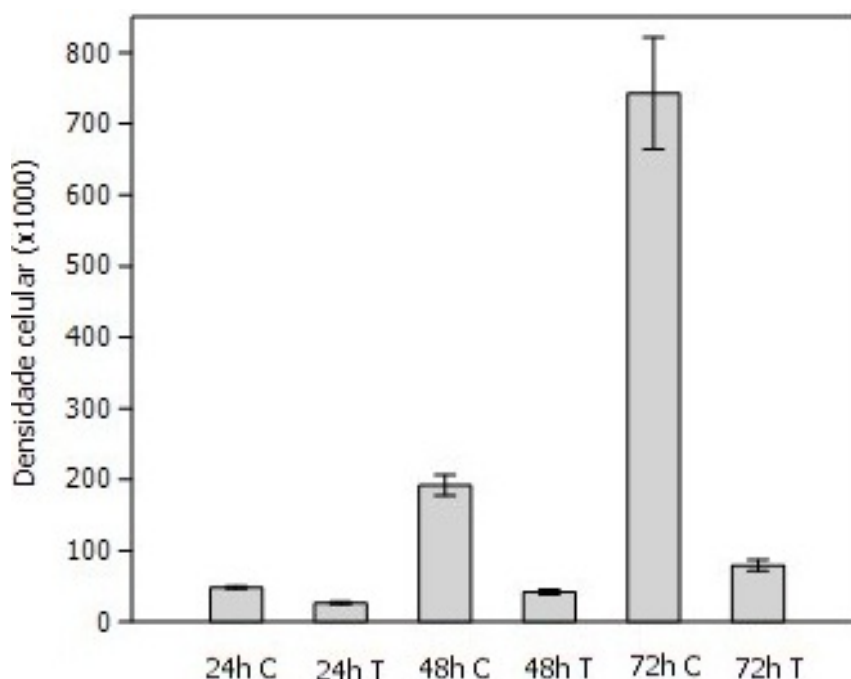


Figura 2 – Densidade celular da CE_{50} durante as três etapas experimentais. A abreviação “C” corresponde ao grupo controle, “T” ao grupo tratado com acrilamida.

As hipóteses consideradas para a análise estatística foram:

1. Se ocorreram diferenças significativas entre o grupo tratado com acrilamida ($CE_{50} = 5,88 \text{ mg/L}^{-1}$) em comparação aos resultados do controle, em três pares amostrais, durante o período de 24, 48 e 72 horas.
2. Se ocorreu variação significativa dentro das amostras do grupo controle entre os períodos das 24, 48 e 72 horas.
3. Se ocorreu variação significativa dentro das amostras do grupo da CE_{50} , entre os períodos das 24, 48 e 72 horas.

Os resultados da análise estatística confirmam que houve diferença significativa, ($p < 0,05$) no crescimento populacional do grupo tratado com acrilamida em relação ao grupo controle durante as três etapas do experimento. Quando se analisou a densidade celular dos grupos separadamente, (controle e tratamento), durante as 24, 48 e 72 horas, ambos os casos diferiram significativamente, comprovando o crescimento exponencial das algas durante as 72 horas do experimento. Esse resultado comprova que a acrilamida afetou o crescimento populacional da clorófitica *D. quadricauda*.

CONCLUSÕES

Os resultados desse estudo indicam que houve toxicidade da acrilamida nas células da microalga *Desmodesmus quadricauda*. A presença da acrilamida causou alterações significativas sobre o crescimento populacional da espécie avaliada. *D. quadricauda* mostrou-se sensível a acrilamida, que foi inibitória para 50% da população (CE_{50}) em $5,88 \text{ mg.L}^{-1}$. Os resultados obtidos nessa pesquisa alertam para a necessidade do monitoramento das concentrações de acrilamida nos corpos hídricos, que podem causar toxicidade a esta espécie e, provavelmente, a outras espécies fitoplancônicas. Os parâmetros afetados pela acrilamida em *Desmodesmus quadricauda* são importantes do ponto de vista ecotoxicológico, pois ameaçam sistematicamente o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos que podem ser afetados pela presença dessa substância, disponível em inúmeras fontes poluidoras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA, A. P. Standard Methods for the examination of water and wastewater (21^a ed.). Washington, 2005.
2. BRASIL. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, 2011.
3. BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. Potencial fatores de risco à saúde decorrentes da presença de subprodutos de cloração na água utilizada para consumo humano. Brasília: Funasa, p. 126, 2007.
4. BRAYNER, R. et al. Micro-algal biosensors. Anal Bioanal Chem, v.401, p.581-597, 2011.
5. CAMARGO, A. et al. Meio Ambiente Brasil: Avanços e Obstáculos Pós Rio-92. São Paulo: Estação Liberdade: Instituto Socioambiental: Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas, 2002.
6. KOVÁČIK, J.; BABULA, P.; HEDBAVNY, J.; KRYSTOFOVÁ, O. e PROVAZNIK, I. Physiology and methodology of chromium toxicity using alga *Scenedesmus quadricauda* as model object. Chemosphere. Vol 120, p 23-30, 2015.
7. OECD/OCDE. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test. OECD Guidelines for the testing of chemicals, 2011.
8. TAKAHASHI, T.; YOSHII, M.; KAWANO, T.; KOSAKA, T. e HOSOYA, H. A new approach for the assessment of acrylamide toxicity using a green paramecium. Toxicology in Vitro. V 19, p 99-105, 2005.
9. THOMAS, K.A & HAND, L. H. Assessing the potential for algae and macrophytes to degrade crop protection products in aquatic ecosystems. Environmental Toxicology and Chemistry, v. 30 N° 3, p.622-631, 2011.