

II-199 - TOXICIDADE NO SOLO – AVALIAÇÃO DE FÁRMACOS COM SEMENTES

Marta Siviero Guilherme Pires* - martasiv@unicamp.br, Karolyne Enir Serafim-k254005@dac.unicamp.br, Isabelle Nogueira Balieiro da Silva- i253981@dac.unicamp.br, Elaine Cristina Catapani Poletti - elainec@unicamp.br, Bruna de Jesus Moreira- b234926@dac.unicamp.br

Faculdade de Tecnologia – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Endereço: R. Paschoal Marmo, 1888 - Jardim Nova Italia, Limeira - SP, 13484-332

RESUMO

Fármacos têm sido detectados em diversas matrizes ambientais, causando preocupações devido aos potenciais impactos negativos e à ausência de regulamentações adequadas. A aspirina e a prednisona foram escolhidas devido ao seu consumo frequente e à detecção em corpos hídricos. Ensaios de fitotoxicidade foram realizados no utilizando sementes de rúcula (*Eruca sativa*) da variedade Antonella. As concentrações dos fármacos utilizadas foram preparadas a partir de soluções estoque, resultando em cinco diferentes diluições para cada fármaco. As sementes foram expostas a essas concentrações em placas de Petri, e a germinação e o crescimento das raízes foram avaliados após 5 dias de incubação. Os resultados foram analisados estatisticamente para determinar a Concentração de Efeito Não Observado, a Concentração de Efeito Observado e a Concentração de Inibição de 50%. Os dados indicaram que a rúcula foi mais sensível a aspirina, com uma CE50 de 24,78 mg L⁻¹, comparada à Prednisona, cuja CE50 foi de 525,59 mg L⁻¹. A germinação das sementes e o alongamento das raízes foram afetados significativamente a partir de concentrações de 460 mg aspirina L⁻¹/kg e 450 mg prednisona mg L⁻¹. Estes resultados sugerem que diferentes sementes possuem sensibilidades variadas aos contaminantes. Conclui-se que a rúcula apresentou maior sensibilidade a aspirina do que à prednisona. Os resultados ressaltam a importância de expandir estudos sobre a toxicidade de fármacos no solo, realizando ensaios com diversas sementes e organismos da fauna edáfica para proteger adequadamente este ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Solo; fitotoxicidade; rúcula; aspirina; prednisona.

INTRODUÇÃO

Os fármacos têm sido detectados nas diferentes matrizes ambientais, como água e solo e causam grande preocupação ambiental, pois são escassos os estudos sobre a presença e os impactos ambientais causados, bem como regulamentações que estabeleçam limites máximos nas matrizes ambientais (DRZYMALA e KALKAM 2023; SALAH et al, 2023). Dessa forma, é importante avaliar o comportamento dessas substâncias afim de minimizar seus impactos negativos no meio ambiente (KUMAR; MOHAPATRA; WEBER, 2023).

Dentre os fármacos bastante consumidos pode-se citar o ácido acetilsalicílico (AAS), frequentemente encontrado em amostras ambientais. Salgado et al. (2021) avaliaram o risco potencial de produtos farmacêuticos descartados indevidamente e seus efeitos nos organismos aquáticos e observaram que. o AAS foi encontrado em 23% respectivamente em “farmácias domiciliares”.

A prednisona é um medicamento glicocorticoide usado para tratar várias doenças como artrite, hepatite, doenças alérgicas, asma e hanseníase (TOEHWÉ; PRADO; ROCHA, 2017), que tem sido detectado em corpos hídricos, o que torna pertinente avaliar seus efeitos de toxicidade para as matrizes ambientais (SANTOS et al., 2020).

Os ensaios para avaliar a toxicidade realizados com organismos vivos pode fornecer uma medida direta do efeito desses compostos (KUMAR; MOHAPATRA; WEBER, 2023), avaliando os efeitos adversos de um composto, neste caso fármacos, sobre a germinação das sementes, crescimento da raiz ou desenvolvimento, o



que pode contribuir para compreender o entendimento da sensibilidade à que a semente é exposta (URRIOLA, et al., 2021).

Esses ensaios são de baixo custo, rápidos e recomendados pela EPA na avaliação de diferentes substâncias químicas, com os fármacos, e é uma importante ferramenta complementar para avaliar o efeito de diferentes contaminantes no solo. (JIN, et al., 2022). O presente trabalho avaliou a sensibilidade de sementes quando expostas a esses fármacos, considerando que o solo pode ser afetado pela disposição inadequada desses resíduos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade dos fármacos comerciais Aspirina e Prednisona em semente de rúcula (*Eruca sativa*).

MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Ecotoxicologia de Solos (LAECOS) da UNICAMP, de acordo com o preconizado pelas Normas OECD 208/2006 e ISO 11269-1 (2012). Neste estudo foram utilizados fármacos comerciais sendo, 96% do princípio ativo do ácido acetilsalicílico (AAS) - EMS e ativo Prednisona (PRED) 20 mg Nova Química (96% de princípio ativo).

Sementes

Os testes de fitotoxicidade foram realizados com a semente *Eruca sativa* (rúcula), da variedade Antonella, livre de agroquímicos, com germinação superior a 95%, produzidas pela empresa ISLA®.

Concentrações dos fármacos

Para preparar as concentrações, que foram usadas nos ensaios de fitotoxicidade, foi inicialmente preparada solução estoque de cada fármaco a ser testado, a partir da fórmula comercial. Em seguida, essas soluções foram diluídas para obter as respectivas concentrações. Para a prednisona foram usadas as concentrações 0,45; 4,5; 45; 450 e 4500 mg PRED kg⁻¹ e para o ácido acetilsalicílico 0,46; 4,6; 46; 460 e 4600 mg AAS kg⁻¹.

Montagem do teste

Em uma placa de Petri esterilizada, foi colocado papel filtro embebido com 4mL da solução-estoque contaminada com as concentrações pré-determinadas de cada fármaco. Com o auxílio de pinça foram adicionadas 20 sementes de rúcula (*Eruca sativa*) por placa, e todas as concentrações foram realizadas em quadruplicata. Como controle foi utilizada água deionizada.

As placas Petri foram fechadas e armazenadas dentro de um saco plástico atóxico escuro, sem entrada de luz, e incubadas por 5 dias à temperatura controlada de 22 ± 1 °C. Ao final do período do ensaio, os comprimentos das raízes de cada uma das plântulas correspondentes a cada concentração foram medidos cuidadosamente, com o auxílio um paquímetro digital.

Análise estatística

Os resultados referentes à germinação das sementes e o comprimento das raízes, foram submetidos a ANOVA a fim de verificar a normalidade dos resultados gerados partir da metodologia de análise de acordo com Chan-Keb et al., (2018) e Osman et al., (2020). Tal metodologia calcula o índice de germinação das sementes possibilitando inferir sobre a toxicidade do fármaco.

RESULTADOS

O tratamento estatístico dos dados obtidos nos testes realizados com os dois fármacos avaliados foi realizado pelo teste de Shapiro-Wilk no software Statística 7.0, com $p > 0.05$, indicando uma distribuição normal. Foi realizada Análise de Variância (ANOVA), para avaliar a diferença entre as concentrações dos fármacos. Além disso, foram obtidas a Concentração de Efeito Não Observado (CENO) e Concentração de Efeito Observado (CEO) pelo teste de Dunnett, juntamente com a Concentração de Inibição de 50% (CE50) no Rstudio.



Os resultados referentes ao teste de toxicidade, incluindo germinação das sementes e o comprimento das raízes, foram submetidos à análises de variância, a fim de verificar os resultados gerados partir da metodologia de análise de acordo com Chan-Keb et al., (2018) e Osman et al., (2020). Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Fármaco	Semente	mg L ⁻¹			
		CENO	CEO	CE50	
Aspirina	Rúcula		4,6	46	24,78
Prednisona	Rúcula		4,5	45	525,59

As equações de 1 e 2 apresentam como calcular o índice de germinação e a equação 3 apresenta a porcentagem de inibição do alongamento da raiz (PIAR).

Os índices de germinação e alongamento das raízes foram calculados a partir das seguintes equações:

$$G\% = \frac{N^\circ \text{ de sementes germinadas na amostra}}{N^\circ \text{ total de sementes}} \times 100$$

$$IGR = \frac{N^\circ \text{ de sementes germinadas no controle} - N^\circ \text{ de sementes germinadas na amostra}}{N^\circ \text{ de sementes germinadas no controle}}$$

$$PIAR = 100 - \left(\frac{\text{Média do alongamento da raiz na amostra} * 100}{\text{Média do alongamento da raiz no controle}} \right)$$

Análise dos resultados

Os resultados indicaram que a semente de rúcula foi mais sensível ao fármaco comercial aspirina, com CE50 de 24,78 mg AAS L⁻¹, quando comparado ao predisona, cujo CE50 de 525,59 mg PRED L⁻¹ Biczak e Pawłowska (2022) avaliaram o efeito de ASS em sementes de cevada, em concentrações inferiores às testadas no presente trabalho e não observaram efeitos na germinação das sementes, no entanto o alongamento das raízes não foi afetado. No presente estudo foi observado que a % de germinação das sementes e o alongamento das raízes foram afetados a partir da concentração de 460 mg AAS kg⁻¹. Cabe ressaltar que diferentes sementes apresentam diferentes sensibilidades quando expostas aos contaminantes. A Figura 1 apresenta a média de alongamento exposta a aspirina e a Figura apresenta a média de alongamento exposta a prednisona.

Figura 1 – Alongamento médio de raiz da semente de *Eruca sativa* em exposição a aspirina

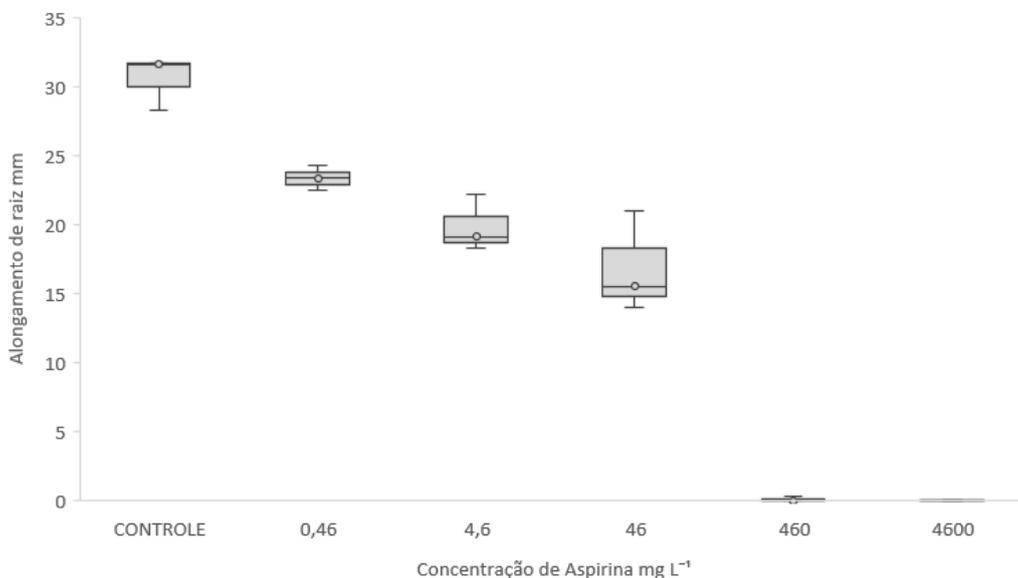
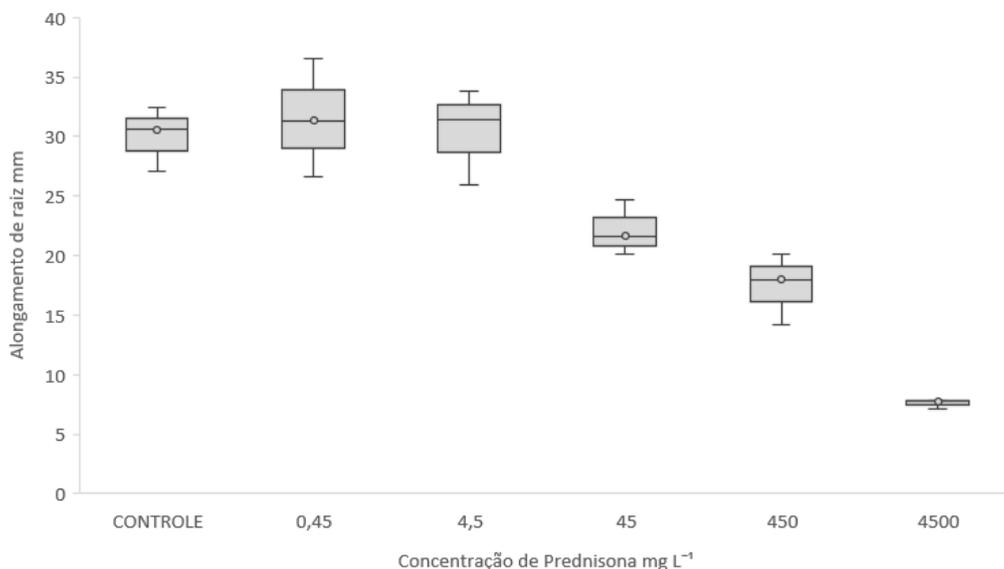


Figura 2 – Alongamento médio de raiz da semente de *Eruca sativa* em exposição a prednisona



Para a prednisona, a partir dos resultados é possível observar que abaixo do CEO o alongamento da raiz se mostrou maior que em relação ao controle, no entanto a partir do CEO o alongamento da raiz sofre diminuição com uma relação dose-efeito. Esse efeito também pode ser observado através do índice PIAR.

Também é possível observar o decaimento da porcentagem de germinação da semente a partir da concentração 4,5 mg PRED L⁻¹ e 4,6 mg AAS L⁻¹, que também pode ser observado a partir do IGR.



CONCLUSÕES

A semente de rúcula apresentou diferente sensibilidade frente aos dois compostos avaliados. Cabe ressaltar que os estudos com fármacos para toxicidade no solo ainda são escassos e que esta matriz ambiental pode receber descarte de forma indevida destes compostos, sendo de fundamental importância ampliar os estudos desses compostos, realizando ensaios com outras sementes e outros organismos, como os da fauna edáfica, para que o solo seja protegido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BICZAK, R.; PAWŁOWSKA, B. Reaction of spring barley seedlings and *H. incongruens* crustaceans to the presence of acetylsalicylic acid in soil, *Journal of Environmental Management*, Volume 302, Part A, 2022.
2. CHAN-KEB, C. A. et al. Acute toxicity of water and aqueous extract of soils from Champotón river in *Lactuca sativa* L. *Toxicology reports*, v. 5, p. 593-597, 2018.
3. DRZYMAŁA, J.; KALKA, J. Effects of diclofenac, sulfamethoxazole, and wastewater from constructed wetlands on *Eisenia fetida*: impacts on mortality, fertility, and oxidative stress. *Ecotoxicology*, v. 32, n. 7, p. 858-873, 2023.
4. ISO. International Organization for Standardization 11269-2 - Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil -ora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. [S.l.], jan. 2012.
5. - JIN, L. et al. Hotspots and trends of biological water treatment based on bibliometric review and patents analysis. *Journal of Environmental Sciences*, v. 125, p. 774-785, 2023.
6. OECD. Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. Paris, ago. 2006. DOI: 10.1787/9789264070066-en
7. OSMAN, M. S. et al. Different wave structures and stability analysis for the generalized (2+1)-dimensional Camassa–Holm–Kadomtsev–Petviashvili equation. *Physica Scripta*, v. 95, n. 3, p. 035229, 2020.
8. SALGADO, M. AR et al. Evaluation of the potential environmental risk from the destination of medicines: an epidemiological and toxicological study. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 29, p. 61-71, 2021.
9. SANTOS, A.V. et al. Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in water supply systems in Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 746, dez. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141011>>. Acesso em: 20 abr. 2023.
10. TOEHWÉ, L. H.; PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Prednisone raw material characterization and formulation development. São Paulo: *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/s2175-97902017000400088>>. Acesso em: 02 maio. 2023.
11. URRIOLOA, et al. Evaluación de la fitotoxicidad de abonos orgánicos comerciales usando semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y pepino (*Cucumis sativus*). *Revista especializada en ciencias agropecuarias*. 2021

Agradecimentos:

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia - PPGT - FT UNICAMP – Código de Financiamento 001”.