

X-029 - TESTES DE ECOTOXICIDADE EM AMOSTRAS DE MATERIAL PARTICULADO INALÁVEL (MP10)

Maraline Conservani Klingohr Zanatta⁽¹⁾

Tecnóloga Ambiental da Faculdade de Tecnologia (FT/UNICAMP). Mestra em Tecnologia e Inovação pela Faculdade de Tecnologia (FT/UNICAMP). Doutoranda em Ambiente pela Faculdade de Tecnologia (FT/UNICAMP).

Simone Andréa Pozza⁽²⁾

Graduada em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Mestra e Doutora em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Professora Doutora na Faculdade de Tecnologia (FT) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Marta Guilherme Siveiro Pires⁽³⁾

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo. Mestrado em Engenharia Civil pela Universidade Estadual de Campinas. Doutora em Engenharia Civil pela Universidade Estadual de Campinas.

Endereço⁽¹⁾: Rua Paschoal Marmo, 1888 - Jd. Nova Itália - Limeira - SP -. CEP: 13484-332 – Brasil - Tel: +55 (19) 2113 3344. e-mail: maralineck@hotmail.com

RESUMO

Materiais particulados podem trazer sérios riscos à saúde e ao ambiente. O nível de contaminação do ar pelas emissões de material particulado (MP) pode ser avaliado pela medição de sua concentração na atmosfera com uso de amostradores. Em locais com maior tráfego veicular é possível encontrar maiores concentrações de MP. Esse trabalho realizou o teste de fitotoxicidade com o material particulado inalável (MP10) coletado na cidade de Limeira/SP, em local de tráfego intenso, em um período de 24 h. Após a coleta, o MP foi extraído do filtro por imersão e ultrassom. Foram feitas duas amostragens, com coletas em dias diferentes. Os estudos realizados nesse trabalho mostraram que, nas concentrações testadas, o MP10 não foi tóxico para as sementes de alface.

PALAVRAS-CHAVE: Fitotoxicidade, *Lactuca sativa* L., material particulado suspenso.

INTRODUÇÃO

A poluição atmosférica tem-se mostrado um grave problema ambiental atualmente, cujos efeitos podem ser detectados em vários compartimentos ambientais, afetando todo ecossistema e prejudicando os serviços ambientais. As emissões veiculares representam um percentual significativo na degradação da qualidade do ar em diversos locais. Em alguns centros urbanos, o tráfego rodoviário é responsável por até 80% da emissão de material particulado (BATHMANABHAN e MADANAYAK, 2010; ILLI et al., 2016). A toxicidade dessas partículas não está associada somente ao aumento da massa, mas também a forma e a composição química (Moreno et al., 2006).

As partículas atmosféricas compreendem uma mistura complexa de diversos elementos e compostos químicos, tais como sulfatos, nitratos, amônia, compostos orgânicos, sais marinhos (NaCl), elementos do solo (Al, Si, Ti, Ca, Fe) e elementos metálicos (Pb, Zn, Ni, Cu, V, Cr, Cd, Hg entre outros). As partículas são emitidas não apenas pelo uso do combustível, mas também de outras partes do sistema de funcionamento dos veículos bem como, pelo seu deslocamento, que causa ressuspensão do solo (POZZA et al., 2006; KASSOMENOS et al., 2014; Ciu et al., 2016). O material particulado (MP) é dividido em quatro classes, MP0,1, conhecidas como ultrafinas ($d \leq 0,1 \mu\text{m}$), MP2,5, partículas finas ($d \leq 2,5 \mu\text{m}$), MP10, grossa ($d \leq 10 \mu\text{m}$) e Partículas Totais em Suspensão (PTS) ($d \leq 50 \mu\text{m}$) (SEINFELD & PANDIS, 2006). Geralmente, partículas de até $10 \mu\text{m}$ podem ocasionar problemas de saúde, já as que apresentam tamanhos maiores, as PTS, podem interferir na estética ambiental (REZLER et al., 2011; HUANG et al., 2017).

A deposição de compostos tóxicos oriundos desse tipo de poluição pode ser responsável por causar contaminação no solo, afetando a biota e sua aptidão para agricultura, por exemplo. Dessa forma é importante buscar testes que possam avaliar o efeito desse tipo de poluição no solo.

Os testes de ecotoxicidade são considerados uma importante ferramenta para avaliar o risco ambiental de substâncias tóxicas no solo e podem ser feitos com vários tipos de micro-organismos, além de plantas. Esses testes expõem os organismos a determinadas substâncias e determina a relação dose-efeito (ZHANG e VAN GESTEL, 2017) e vêm sendo bastante usados na avaliação ambiental de compartimentos ambientais, como solos (SIMANTIRAKI et al., 2013) e são complementares em uma avaliação ambiental mais robusta.

Dentro desse contexto, pode-se citar o teste de germinação e crescimento de raízes, que avalia a sensibilidade de crescimento de sementes quando expostas a uma determinada concentração de substâncias que podem causar toxicidade (DA MATTA e UMBUZEIRO, 2014). Esse teste tem como aspectos positivos simplicidade e rapidez de execução, de baixo custo, além de possibilitar avaliação dos efeitos causados por diversos compostos. São testes confiáveis e apresentam vantagens de serem mais sensíveis ao estresse ambiental (VALERIO et al, 2007; VISIOLI et al, 2014).

O objetivo do presente trabalho foi de utilizar testes de germinação e crescimento de raízes para avaliar o efeito da do material particulado suspenso em sementes de alface (*Lactuca sativa* L.).

MATERIAIS E MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO

O estudo aconteceu na cidade de Limeira (SP), na estação de amostragem (altitude 634 m, latitude sul: 22°33'45''e longitude oeste: 47°25'23'') localizada no Campus da Faculdade de Tecnologia (FT)- Unicamp. A cidade apresenta clima temperado, com inverno seco e temperatura média acima de 22°C nos meses mais quentes, prevalecendo ventos do quadrante sudeste. O município tem 303.682 habitantes (população estimada em 2018) (IBGE, 2018). O município localiza-se a 154 km ao nordeste da cidade de São Paulo, tem atividades agrícolas e industriais, além de intenso tráfego veicular.

AMOSTRAGEM DO MP10

A coleta do MP10 foi feita em amostrador de grande volume (AGV) – MP10, que coleta a fração de material particulado menor ou igual a 10 µm. As coletas de MP10 foram realizadas em ciclos de 24 horas. A escolha do regime de operação se deu com base nas recomendações das normas brasileiras NBR 13412 (ABNT, 1995) e NBR 9547 (ABNT, 1997) que sugerem que a vazão média (1,13 m³.min⁻¹) de operação dos equipamentos seja mantida a mais constante possível durante o procedimento de amostragem.

Foram utilizados filtros de fibra de vidro (20cmx25cm) que ficaram acondicionados em dessecador, por 24 horas, antes e depois das coletas. A massa de material particulado depositada no filtro foi determinada por gravimetria, obtendo a concentração de MP10 em µg.m⁻³.

Após a amostragem, os filtros foram encaminhados para realizar os procedimentos de pesagem, extração e ensaio de toxicidade.

ENSAIOS DE TOXICIDADE COM SEMENTES

A extração do Material Particulado (MP10) foi realizada através da imersão dos filtros em 80ml de água ultrapura em ultrassom por 8 horas. Após esse período a amostra foi avolumada a 100ml em balão volumétrico e foram retiradas alíquotas para realização dos testes de toxicidade com semente. Um filtro sem uso também passou pelo mesmo procedimento de extração para ser usado como o controle no teste. A semente utilizada foi a de alface – *Lactuca sativa*- e os ensaios foram realizados de acordo com a Norma U.S. EPA “Ecological Effects Test Guidelines” OPPTS 850.4200 – Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test (USEPA, 1996).

Para a realização do teste de toxicidade aguda com *Lactuca sativa* foi utilizada a variedade Regina de Verão, preferida pela rápida germinação, e as sementes usadas estavam isentas de pesticidas, praguicidas e defensivos. O método consistiu em preparar um controle negativo com água altamente purificada e um controle feito a partir da exposição de um filtro sem uso às mesmas condições do filtro com material particulado (ultrassom por

8 horas). A partir da extração do filtro com MP10 foram preparadas as concentrações 60, 70, 80, 90 e 100% de extrato e utilizadas para realização dos ensaios.

Em cada placa de Petri foi colocado um papel de filtro e adicionado 4 mL da diluição da amostra ou controles, e com o auxílio de pinça foram adicionadas 20 sementes, e para cada concentração avaliada e os controles, as análises foram realizadas em triplicata.

Para não ocorrer perda de umidade, as placas de Petri foram fechadas, e mantidas no escuro. As placas foram incubadas por 120 h ou 5 dias, à temperatura controlada de 22 ± 1 °C.

Ao final da exposição, os comprimentos das raízes de cada uma das plântulas correspondentes a cada concentração foram medidos cuidadosamente, com o auxílio de uma régua, os números de sementes que não germinaram foram quantificados e calculados a porcentagem de variação do crescimento das raízes.

Os resultados foram avaliados de acordo com os critérios estabelecidos por TAM & TIQUIA (1994), determinando-se a germinação relativa das sementes, alongamento relativo das raízes e índice de germinação.

RESULTADOS OBTIDOS

Foram determinados valores gravimétricos de dois filtros, nomeados como A e B, apresentando massa depositadas nos filtros, de 403 e 562 mg, respectivamente e as concentrações de poluentes foram de 24,52 e 34,20 $\mu\text{g.m}^{-3}$, respectivamente indicando baixa concentração de MP10 nas amostras avaliadas.

Após medidos os comprimentos da raiz de cada semente germinada, foram calculados as médias e o desvio padrão. A avaliação do controle negativo com água ultrapura comparada ao controle feito com o filtro limpo foi realizada para verificar se o material que compõem o filtro para a coleta das partículas atmosféricas poderia trazer toxicidade ou não às sementes colocadas em teste, e com essa análise seria eliminado um possível interferente. A Figura 1 apresenta valores do comprimento da raiz medidos no ensaio de fitotoxicidade e os desvios padrão.

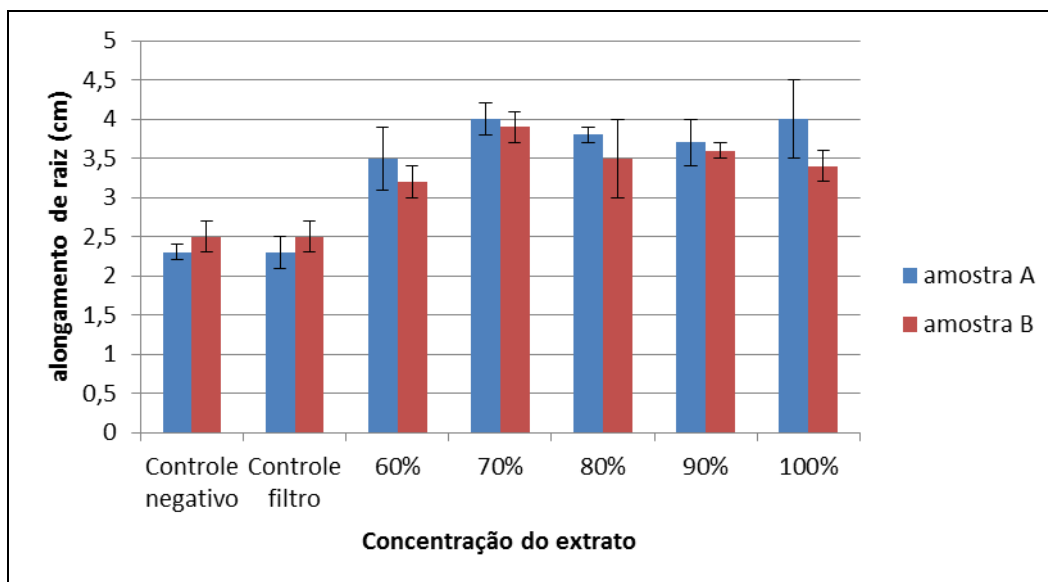


Figura 1: Comprimento médio da raiz (cm) e o desvio padrão para os controles e extratos com diferentes concentrações do poluente atmosférico, para *Lactuca sativa* L.

Os resultados do crescimento médio entre o controle negativo e o controle com o filtro MP10 mostram que o filtro utilizado para a coleta do particulado não apresentou toxicidade às sementes de *Lactuca sativa* L. e os resultados obtidos foram próximos aos resultados da análise realizada apenas com água (controle negativo). Já para os extratos pode ser observado um estímulo no crescimento das sementes. As raízes se alongaram em até 5,5cm nos extratos enquanto para os controles o comprimento maior foi de 3,8cm. Para esse ensaio o poluente

não apresentou toxicidade às sementes testadas. Valores de ARR e IG foram calculados e apresentados na Tabela 1. O comparativo foi feito com o controle que utilizou o extrato do filtro já que o mesmo não apresentou interferência no ensaio fitotóxico.

Tabela 1: Alongamento Relativo da Raiz (ARR) e Índice de Germinação (IG) para as diferentes concentrações dos dois extratos do particulado.

Concentração do extrato	Amostra A		Amostra B	
	ARR (%)	IG (%)	ARR (%)	IG (%)
60%	152,2	144,6	128,0	128,0
70%	173,9	167,8	156,0	150,5
80%	165,2	165,2	140,0	116,9
90%	160,9	142,4	144,0	127,4
100%	173,9	162,6	136,0	127,2

O ARR representa em porcentagem a comparação do crescimento das sementes nas dadas concentrações comparadas ao controle. Os extratos dos particulados não sofreu inibição de crescimento, pelo contrário, houve um estímulo ao alongamento da raiz que chegou a aproximadamente 174 % maior que no controle.

O IG, também representado pela porcentagem do comparativo com o controle, além de considerar o ARR também considera em seu cálculo a germinação relativa da raiz. Os valores para todas as concentrações também foram maiores que o controle. Esses valores maiores que 127,2% são resultados do maior alongamento da raiz e da boa germinação nas amostras com o particulado. O menor valor de germinação relativa da raiz foi de 88,5%, o representa uma ótima germinação. Essa ausência de toxicidade nos testes realizados pode estar relacionada baixa concentração de MP10 detectada nas coletas realizadas. Em etapas futuras serão realizadas análises com outras amostras de MP.

CONCLUSÕES

O ensaio de fitotoxicidade mostrou que os particulados, nas condições de extração descrita na metodologia e nas concentrações apresentadas, não causaram efeito tóxico para sementes de alface (*Lactuca sativa L.*), e ainda estimularam o alongamento da raiz. Esse comportamento se deu em razão dos elementos químicos presentes na composição do particulado e que são nutrientes para a planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT. NBR 13412: Material Particulado em Suspensão na Atmosfera – Determinação da concentração de partículas inaláveis pelo método do amostrador de grande volume acoplado a um separador inercial de partículas – método de ensaio, São Paulo, 8 pp. 1995.
2. Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. NBR 9547: Material Particulado em Suspensão no Ar Ambiente – Determinação da concentração total pelo método do amostrador de grande volume – método de ensaio, São Paulo, 14 pp. 1997.
3. BATHMANABHAN, S.; MADANAYAK, S.N.S., 2010. Analysis and interpretation of particulate matter – PM10, PM2.5 and PM1 emissions from the heterogeneous traffic near an urban roadway. Atmospheric Pollution Research 1, 184-194.
4. CUI, M., CHEN, Y., TIAN, C., ZHANG, F., YAN, C. ZHENG, M., 2016. Chemical composition of PM2.5 from two tunnels with different vehicular fleet characteristics. Science of the Total Environment 550, 123–132. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.077>.
5. DA MATTA, M. E.M.; UMBUZEIRO, G. A. Sewage sludge hazard index based on bioassays: strategic tool for the decision-making process on sludge agricultural use. RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade, v. 7, n. 2, p. 76- 82, jun. 2014.
6. HUANG, Y.; DU, W.; CHEN, Y.; SHEN, G.; SU, S.; LIN, N. SHEN, H.; ZHU, D.; YUAN, C.; DUAN, Y.; LIU, J.; LI, B.; TAO, S. 2017. Household air pollution and personal inhalation exposure to particles (TSP/PM2.5/PM1.0/PM0.25) in rural Shanxi, North China. Environmental Pollution 231, Part 1 635-643.

7. ILLI, J. C., VANCETTA, T., ALVES, D. D., OSÓRIO, D. M. M., BIANCHIN, L., QUEVEDO, D. M., JUCHEM, F. 2017. Integrated assessment of air pollution by metals and source apportionment using ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) in southern Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 2790-2803.
8. KASSOMENOS, P.A., VARDOLAKIS, S., CHALOULAKOU, A., PASCHALIDOU, A.K., BORGE, R., LUMBRERAS, J., 2014. Study of PM10 and PM2.5 levels in three European cities: Analysis of intra and inter urban variations. *Atmospheric Environment* 87, 153-163. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.01.004>.
9. POZZA, S. A., BRUNO, R. L., GONÇALVES, J. A. S., COURY, J. R., 2006. Vehicular emission source profile for the City of São Carlos - Brazil. In CHISA 2006 - 17th International Congress of Chemical and Process Engineering. Retrieved from <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34748819428&partnerID=tZOtx3y1>.
10. REZLER, K.J., REIZER, M., OUDINET, J.P. 2011. Determination and analysis of PM10 source apportionment during episodes of air pollution in Central Eastern European urban areas: The case of wintertime 2006. *Atmospheric Environment* 45: 6557-6566.
11. SEINFELD, J. H., PANDIS, S. N. Atmospheric chemistry and physics: from air pollution to climate change, 3° edição 2006.
12. SIMANTIRAKI, F., KOLLIAS, C. G., MARATOS, D., HAHLADAKIS, J., & GIDARAKO, E. Qualitative determination and application of sewage sludge and municipal solid waste compost for BTEX removal from groundwater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v.1, p. 9-17. 2013.
13. TAM, N.F.Y.; TIQUIA, S.M. Assessing toxicity of 'spent sawdust pig-litter' using seed germination technique. *Resource Conservation Recycling*, v.11, p.261-274, 1994.
14. USEPA. United States Environmental Protection Agency - Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.4200 – Seed germination / Root Elongation Toxicity Test. P.a. T. S. Prevention. Washington D.C., USEPA: 6, 1996.
15. VALERIO, M.E.; GARCIA, J.F.; PEINADO, F.M. Determination oh phytotoxicity of soluble elements in soils, based on bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L). *Science of the Total Environment*, v. 378, p. 63-66. 2007.
16. VISIOLI, G.; CONTI, F. D.; GARDI, C.; MENTA, C. Germination an root elongation bioassays in six different plant species for testing Ni contamination in soil. *Bull. Environ Contam Toxicol*, v. 92, p. 490-496. 2014.
17. ZHANG, L.; VAN GESTEL, C. A.M. Toxicokinetics and toxicodynamics of lead in the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus*. *Environmental Pollution*, v. 225, p 534-541. 2017.