

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

### BIOLOGIA

#### AVALIAÇÃO ECOTOXICOLÓGICA CRÔNICA COM *EISENIA ANDREI* PARA ÍNDIGO CARMIM E PRODUTO DE FOTODEGRADAÇÃO

<sup>1</sup> Patrícia C. G. Pereira (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Patrícia C. Rastoldo (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Roberta V. Reimão (IC-UNIRIO); <sup>1</sup> Paulo F. Conceição (Estágio-Voluntário); <sup>1</sup> Sidney F. Sales Jr. (Estágio-Voluntário); <sup>2</sup> Enrico M. Saggiaro (Doutorando); <sup>2</sup> Thelma Pavesi (Tecnologista); <sup>1</sup> Fábio V. Correia (Orientador).

1 - Departamento de Ciências Naturais; Instituto de Biociências; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

2 - Centro de Estudo da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana; Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca; Fundação Oswaldo Cruz.

Apoio financeiro: FAPERJ e CNPq.

Palavras-chave: ecotoxicologia, *Eisenia andrei*, corante.

#### INTRODUÇÃO

O índigo carmim apresenta importância econômica mundial (GUARATINI & ZANONI, 2000), além de ter sua maior aplicação na indústria do jeans, também pode ser utilizado para fins de diagnóstico médico quando aplicado juntamente com o ácido acético. É considerado tóxico para os seres humanos, pode causar irritação cutânea e ocular, interferir com o desenvolvimento neurológico e apresentar propriedades cancerígenas (COLPINI, 2008). A concentração de corantes em despejos desperta um grande interesse quanto a sua remoção, pois são tóxicos à vida aquática e persistentes no ambiente (SILVA, 2011). Dentro da perspectiva de remoção de materiais potencialmente tóxicos e poluentes, os processos oxidativos avançados são uma alternativa de tratamento para águas residuais contendo corantes. O semicondutor TiO<sub>2</sub> utilizado como catalisador no processo apresenta vantagens por ser um método simples, de baixo custo e baixa toxicidade ambiental (OLIVEIRA et al., 2012). Dada a importância do solo como fonte de água e nutrientes, a poluição do ecossistema edáfico pode ter consequências para todas as formas de vida (WILD 1993). Dentre os organismos de solo, as minhocas compreendem 40% a 90% da biomassa de macrofauna da maioria dos ecossistemas tropicais (FRAGOSO et al. 1999). Por meio de ingestão de solo ou serapilheira contaminados, as minhocas entram em contato com poluentes que são aplicados/atingem o solo (SPADOTTO et al. 2004). A partir desse contato, as minhocas podem se intoxicar, morrer, incorporar e até bioacumular poluentes nos tecidos (CURRY 2004). Conforme LINFHURST et al. (1995), teste de toxicidade fornecem medidas diretas da biodisponibilidade e ajudam a estabelecer ligações entre contaminação e efeitos ecológicos adversos.

#### OBJETIVO

Promover testes ecotoxicológicos com *Eisenia andrei*, para verificar a toxicidade crônica do Índigo Carmim frente a estes organismos, e também após a sua fotodegradação, verificando uma possível redução da toxicidade.

#### METODOLOGIA

O solo usado nos experimentos foi coletado no campo experimental da Embrapa Agrobiologia, sendo este classificado como Argissolo e escolhido por ser considerado como um dos solos mais representativos no território brasileiro. Os organismos utilizados nos testes eram da espécie *Eisenia andrei* e foram criados no setor de Ecotoxicologia do laboratório de Toxicologia da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Foram utilizadas minhocas adultas e com peso individual em torno de 300 a 600 mg (ISO 11268-1, 1993). Previamente aos experimentos, as minhocas foram aclimatadas por no mínimo 24h no ambiente de realização dos testes. Foram utilizadas diferentes concentrações de solução de índigo para a contaminação do solo: 1, 10, 50, 100 e 250 mg.kg<sup>-1</sup>. No teste de crônica foram empregados 10 indivíduos da espécie *Eisenia andrei* em cada uma das 5 replicatas de cada concentração. Em cada becker de 500 mL foi colocada amostra de solo, contendo 200 g cada. A umidade do solo foi padronizada em 30%CC, com volume equivalente de solução nos contaminados e de água MILLI-Q nos controles (USEPA, 1996; OECD, 1984). Era necessário contaminar o solo previamente e deixá-lo em repouso pelo período de 24h. As soluções de produtos de fotodegradação do corante foram obtidas pela irradiação de solução de índigo carmim, 80 mg.L<sup>-1</sup>, na presença de TiO<sub>2</sub> (0,1 g.L<sup>-1</sup>) marca Degussa. A suspensão foi mantida sob agitação magnética e irradiada com lâmpada de vapor de mercúrio 125W originando as soluções de teste nos seguintes tempos de irradiação: 60, 120, 180 e 300 minutos. A fotodegradação do corante foi analisada e confirmada por Espectrofotometria UV-Vis.

Para contaminação do solo com os fotoprodutos, foi realizado o mesmo procedimento utilizado anteriormente com o Índigo Carmim. O experimento durou 45 dias, sendo que, durante o período de 14, 21, 28, 35 e 45 dias o número de indivíduos de cada becker foram contados e pesados, também houve a verificação da presença de ovos e filhotes. Após a verificação os potes foram pesados e em seguida adicionado estéril e água MILLI-Q. No período de 15, 30 e 45 dias realizou-se extrusão de 3 minhocas de cada concentração para que pudesse ser analisado a densidade e viabilidade de células.

#### RESULTADOS

A comparação das médias de massa individual entre indivíduos do grupo controle e dos tratamentos com índigo (1 a 250 mg.Kg<sup>-1</sup>) não apresentam diferença estatística nos diversos momentos de amostragem (14, 21, 28, 35 e 45 dias), indicando que o índigo não exerce nestas concentrações efeito que leve à perda de massa. Examinando os dados de média das massas individuais ao longo do tempo, observou-se através da análise estatística (ANOVA um critério, Bonferroni alfa bilateral

### 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

0,05) que a partir do 21º dia, comparando-se todas as concentrações não houve uma diferença estatística na perda de biomassa. Para o grupo controle observou-se diferença estatística comparando-se as médias de massa do 1º para o 14º dia, fato que se repetiu para outras concentrações, o que pode ser devido a adaptação das minhocas à textura do solo. O número total de indivíduos de cada tratamento decaiu ao longo do tempo e do aumento da concentração, de forma mais evidente para concentração 50 mg/Kg-1 de índigo. Apenas a partir do 28º dia foram observados filhotes, tanto no grupo controle como para os tratamentos com índigo. As médias de números de ovos e filhotes do controle foi superior aos tratamentos com índigo. Os tratamentos com menores concentrações de Índigo, 1 mg.Kg-1 e 10 mg.Kg-1, apresentaram maior número de ovos e filhotes que os demais. As taxas de mortalidades do grupo controle são comparáveis, sem diferença estatística, a todos os tratamentos com índigo na segunda e terceira semanas de exposição (14º e 21º dias). A maior taxa de mortalidade observada ocorreu na terceira semana, 21º dia, sendo de 14% para o tratamento com 250mg/Kg de índigo. Com relação a tipagem celular, observou-se uma diminuição de número de eleócito (Gráfico 1) no decorrer do tempo, menos pronunciada para os indivíduos do grupo controle que se manteve numa margem de variação de 10%. Enquanto que o número de amebócitos hialino (Gráfico 2) aumentou proporcionalmente à diminuição dos eleócitos. As células de amebócito granular não sofreram grande variação.

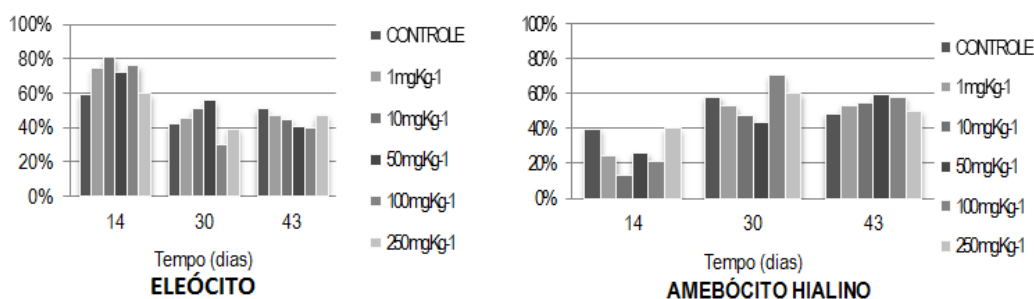


Gráfico 1: Quantidade de Eleócitos extruídos das minhocas de acordo com tempo e o tratamento.

Gráfico 2: Quantidade de Amebócitos Hialino extruídos das minhocas de acordo com tempo e o tratamento.

Durante todo tempo de exposição, 45 dias, não houve diferença estatística entre as massas das minhocas submetidas aos diversos tratamentos, inclusive o grupo controle, analisadas num mesmo momento. Observou-se, entretanto, perda de massa ao longo do tempo, para todos os grupos. Quando analisadas ao longo do tempo, as médias de massas dos indivíduos dos solos tratados com o fotoproduto irradiado por mais tempo, 300 minutos, apresentaram diferença estatística até o 35º dia. A média do número total de minhocas sobreviventes nos tratamentos diminuiu no decorrer do tempo, contudo, além deste decaimento, foi observada uma diminuição no número de minhocas de acordo com o tempo de irradiação: quanto maior o tempo de irradiação menor era o número de minhocas, o mesmo ocorrendo com o número de filhotes e ovos. Com relação aos filhotes, apenas na contagem do 45º dia houve uma diferença, neste dia houve um aumento considerável no número de filhotes do controle, T60 e T120, seguida por uma redução do mesmo nos tempos de irradiação T180 e T300. A partir do 28º dia foram observados filhotes (Gráfico 4). A média de filhotes no 45º dia foi maior para os tratamentos com fotoproduto em 120 e 60 minutos de irradiação que o número de filhotes do grupo controle. Pode-se observar no gráfico 3 que os tratamentos com fotoproduto irradiado por 180 e 300 minutos, portanto menor concentração de Índigo, apresentaram os menores números de filhotes. Estes dados podem indicar que a irradiação do Índigo dá origem a produtos que inibem mais a fertilidade das minhocas que o próprio Índigo. O número de ovos no 45º dia foi maior para o grupo controle, não diferindo muito entre os tratamentos com o fotoproduto a partir de 60, 120 e 180 minutos de irradiação do Índigo, sendo menor para o tratamento de 300 minutos de irradiação do Índigo.

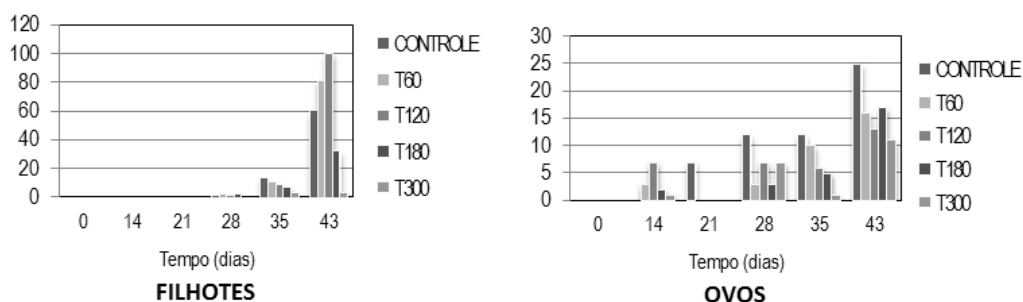


Gráfico 3: Apresenta o número de filhotes encontrados de acordo com os dias e o tempo de fotodegradação.

Gráfico 4: Apresenta o número de ovos encontrados de acordo com os dias e o tempo de fotodegradação.

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Não houve diferença estatística na taxa de mortalidade entre tratamentos com fotoproduto e grupo controle na terceira semana de exposição, 21º dia. Para o grupo controle houveram registros de mortes apenas nas três primeiras semanas de exposição, 21º dia. Para os tratamentos com os fotoprodutos originados de maior tempo de irradiação, 180 e 300 minutos, as maiores taxas de mortalidade foram observadas na mesma ocasião, terceira semana de exposição, sendo respectivamente 9% e 32,7%. Nos tratamentos com fotoproduto também houve uma redução da quantidade de células contabilizadas como eleócito de acordo com o tempo de irradiação do Índigo. Observou-se maior número de eleócitos para tratamentos com menor tempo de irradiação, isto é, maior concentração de Índigo. Os amebócitos hialinos aumentaram proporcionalmente à diminuição dos eleócitos para todos os tratamentos. Os amebócitos granulares não apresentaram variação.

### CONCLUSÃO

Tanto o índigo quanto a mistura de fotoprodutos do índigo não podem ser considerados como causadores da diminuição de massa dos indivíduos nos diversos tratamentos, sendo comparáveis ao controle. Entretanto, os resultados sugerem que tanto o índigo como a mistura de fotoprodutos inibem a reprodução das minhocas e que, a mistura de fotoprodutos formada com maiores tempos de irradiação levam a uma maior inibição reprodutiva que o próprio índigo. Também as taxas de mortalidade sugerem que a mistura de fotoprodutos pode apresentar maior toxicidade crônica para os indivíduos da espécie *Eisenia andrei* que o índigo. Para maior esclarecimento dos efeitos do índigo e a mistura de fotoprodutos do índigo são necessários novos ensaios, com maior número de indivíduos, maior tempo de exposição e determinação de novos parâmetros.

### REFERÊNCIAS

- Colpini, L.M.S. ; dos Santos, A.H.J.; Andreo, O. A. Dyes and Pigments., Discoloration and degradation of textile dye aqueous solutions with titanium oxide catalysts obtained by the sol-gel method, 76, 525-529, 2008.
- Fragoso, C., P. Lavelle, E. Blanchart, B. K. SSenapati, J. J. Jiménez, M. A. Martinez, T. Decaëns & J. Tondoh. 1999. Eathworm communities of tropical agroecosystems: origin, structure and influence of management practices. Pp. 27-55. In: P.Lavelle, L. Brussaard and P.F. Hendrix (Eds). Eathworm management in tropical agroecosystems. CABI, Wallingford
- Guaratini, C.C.I.; Zanoni, M.V.B. Corantes Têxteis, Química Nova, São Paulo, 23 (1) , 71-78, 2000.
- ISO 11268-1:2012, Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia Andrei*
- Linthurst, R. A., P. Bourdeau & R. C. Tardiff. 1995. Methods to assess the effects of chemicals on ecosystems In: SCOPE 53. Methods to study chemical effects. Scientific Committee on Problems of the Environment Report #53. M.S. Swaminathan Research Foundation, Chennai, India. Disponível em: <<http://www.icsu-scope.org/downloadpubs/scope53/chapter03.html>> Acesso em: 4 Outubro 2007.
- Oliveira, A.S.;Saggiaro, E. M.; Pavesi, T. ; Ferreira, L.F.V ; Moreira.C.J . Solar Photochemistry for Environmental Remediation - Advanced Oxidation Processes for Industrial Wastewater Treatment. In: Satyen Saha. (Org.). Molecular Photochemistry - Various Aspects. : InTech, 2012, p. 195-221.
- Spadotto, C. A., M. A. F. Gomes, L. C. Luchini & M. M. Andréa. 2004. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Embrapa Meio Ambiente, Documentos No. 42. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna.
- USEPA 712-C-96-167. (OPPTS 850.4200). Seed germination / root elongation toxicity test. Ecological effects test guidelines. Washington DC. (1996).
- Wild, A. 1993. Soils and the environment: na introduction. Cambridge University Press. Cambridge.