

AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE POLUENTES EMERGENTES ENCONTRADOS EM AMOSTRAS DE ÁGUAS DOS ARROIOS SAPUCAIA E ESTEIO

Enaile Tuliczewski Serpa; Juliana Picinini; Ana Leticia Hilário Garcia; Renata Farias Oliveira; Viviane Cristina Sebben; Dione Silva Corrêa e Juliana da Silva
ULBRA; Campus Canoas; enaile.serpa@rede.ulbra.br

INTRODUÇÃO

Arroio Esteio, ao desaguar no Arroio Sapucaia, contribui para o fluxo do Rio dos Sinos, uma fonte vital de captação de água que supre as necessidades de mais de 1 milhão de pessoas. Ambos esses cursos d'água recebem efluentes domésticos e industriais, transportando uma diversidade de poluentes com o potencial de gerar riscos consideráveis para o ambiente e a saúde humana.

OBJETIVOS

Mostrar a urgente necessidade da realização de biomonitoramento das águas superficiais, principalmente aquelas que desembocam em rios que são mananciais de abastecimento público.

METODOLOGIA

As amostras de água foram coletadas no Arroio Esteio e Arroio Sapucaia e foram submetidas a diversas análises físico-químicas e microbiológicas. A pesquisa por poluentes emergentes foi realizada através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). A citotoxicidade foi avaliada através dos ensaios MTT e *Trypan Blue*, e a genotoxicidade foi avaliada através do ensaio cometa.

RESULTADOS

Houveram alterações em diversos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, e os poluentes emergentes detectados foram cafeína (CAF) e dietiltoluamida (DEET) em ambos os arroios. Os agentes CAF e DEET foram citotóxicos em diferentes concentrações para ambos os ensaios, e induziram efeitos genotóxicos de forma isolada e combinada em concentrações de relevância ambiental (2,5-300 ng/L; $P < 0,05$, Teste de Tukey).

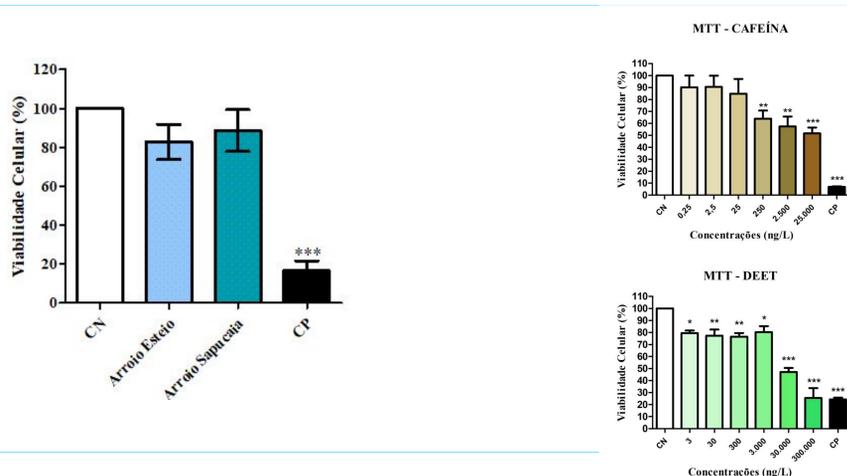


Figura 1: Avaliação da viabilidade celular pelo Ensaio MTT em células HepG2 expostas por 3 h a amostras de água dos arroios, Controle Negativo (CN; meio de cultura) e Controle Positivo (CP; DMSO 20%). As barras representam a média \pm desvio padrão. Diferença significativa em relação ao controle negativo em *** $p < 0,001$ (ANOVA, teste de Dunnett).

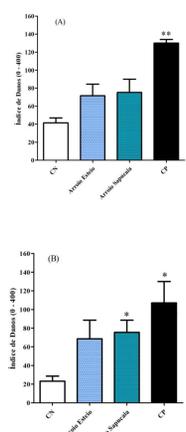


Figura 3: Avaliação do dano ao DNA usando o ensaio cometa alcalino, medido como quebras na cadeia de DNA (A) ou dano oxidativo (B). Ensaio cometa modificado por enzima; + FPG - locais sensíveis) em células HepG2. Controle Negativo (CN, meio de cultura) e Controle Positivo (CP, 4NQO, 0,040 μ M). As barras representam as médias \pm desvio padrão. Diferença significativa em relação ao respectivo CN em * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ (ANOVA, teste de Tukey).

Figura 2: Avaliação da viabilidade celular pelo Ensaio MTT em células HepG2 expostas por 3 h às diferentes concentrações de cafeína (CAF) e dietiltoluamida (DEET); Controle Negativo (CN; meio de cultura) e Controle Positivo (CP; DMSO 20%). As barras representam a média \pm desvio padrão. Diferença significativa em relação ao controle negativo em * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ (ANOVA, teste de Dunnett).

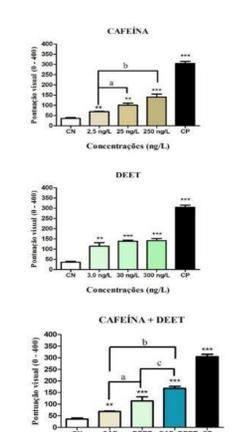
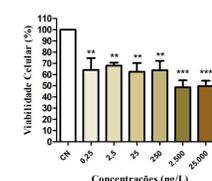


Figura 4: Avaliação do dano ao DNA usando o ensaio cometa alcalino em células HepG2 expostas por 3 h às diferentes concentrações de cafeína (CAF), dietiltoluamida (DEET) ou combinação de ambos (CAF = 2,5 ng/L + DEET = 3,0 ng/L); Controle Negativo (CN, meio de cultura) e Controle Positivo (CP, 4NQO - 0,040 μ M). As barras representam as médias \pm desvio padrão. Diferença significativa em relação ao respectivo CN em * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$. Diferença significativa em relação à cafeína 2,5 ng/L em * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$. Diferença significativa em relação ao DEET 3,0 ng/L em * $p < 0,05$ (ANOVA, teste de Tukey).

TRYPAN BLUE - CAFEÍNA



TRYPAN BLUE - DEET

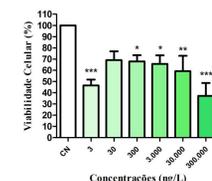


Figura 5: Avaliação da viabilidade celular pelo ensaio *Trypan Blue* em células HepG2 expostas por 3 h às diferentes concentrações de cafeína e dietiltoluamida (DEET); Controle Negativo (CN; meio de cultura) e Controle Positivo (CP; H₂O - 1,4 mM). As barras representam a média \pm desvio padrão. Diferença significativa em relação ao controle negativo em * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ (ANOVA, teste de Dunnett).

Parâmetros	Ponto de Coleta		Valores Recomendados ^a
	Arroio Esteio	Arroio Sapucaia	
Físico-químicos			
pH	7,44	6,39	6,00- 9,00
Condutividade (μ s cm^{-1})	767	409	Não aplicável
Dureza ($mg L^{-1}$)	25,66	19,01	Não aplicável
Cloretos ($mg L^{-1}$)	76,54	44,18	Máx. 250,00
Oxigênio Dissolvido ($mg L^{-1}$)	<LD ^b	<LD ^b	Não menos que 5,0
DBO ^c ($mg O_2 L^{-1}$)	101,90	55,70	Máx. 5,00
DQO ^d ($mg O_2 L^{-1}$)	552	1,05	Não aplicável
Nitratos ($mg L^{-1}$)	2,00	1,90	Máx. 10,00
Nitritos ($mg L^{-1}$)	0,09	0,02	Máx. 1,00
Nitrogênio Amoniacal Total ($mg L^{-1}$)	16,24	9,52	Máx. 3,70
Fósforo Total ($mg L^{-1}$)	0,80	0,06	Máx. 0,05 ^e
Óleos e Graxas ($mg L^{-1}$)	88	98	Ausente
Sólidos Dissolvidos Totais ($mg L^{-1}$)	136	186	Máx. 500
Sólidos Suspensos Totais ($mg L^{-1}$)	26	18	Não aplicável
Sulfatos ($mg L^{-1}$)	101,30	49,90	Máx. 250,00
Sulfato de Hidrogênio ($mg L^{-1}$)	0,27	0,29	Máx. 0,002
Alcalinidade Total ($mg L^{-1}$)	103,88	54,88	Não aplicável
Turbidez (UNT)	61,60	31,30	Máx. 100,00
Cor Verdadeira ($mg Pt L^{-1}$)	100	50	Máx. 75
Microbiológicos			
<i>Escherichia coli</i> (NMP/100 mL) ^g	483920	>483920	Não aplicável ^h
Coliformes Totais (NMP/100 mL) ^g	>483920	>483920	Não aplicável ^h

Table 1: Resultados das análises físico-químicas e microbiológicas dos dois arroios no município de Esteio - RS, Brasil. ^aConforme Resolução CONAMA 357 - Classe II [40]. ^b<LD: abaixo do Limite de Detecção de 0,94 $mg L^{-1}$. ^cDBO: Demanda Bioquímica de Oxigênio. ^dDQO: Demanda Química de Oxigênio. ^eConsiderando ambiente intermediário. ^f<LD: abaixo do Limite de Detecção de 0,10 $mg L^{-1}$. ^gNMP: Número Mais Provável. ^hCONAMA estabelece limites apenas para Coliformes Termotolerantes (máximo 1.000/100 mL de água).

CONCLUSÃO

O presente estudo detectou efeitos genotóxicos em células HepG2 expostas às águas superficiais dos córregos Sapucaia e Esteio. Águas as quais recebem descargas de diferentes fontes poluidoras resultantes da ação antrópica, que podem ser evidenciados por alterações nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, presença de cafeína, dietiltoluamida gerando danos ao DNA resultante de uma mistura complexa de diferentes compostos, incluindo metais pesados. Assim, ressaltando a importância da realização de biomonitoramento com diferentes testes e detecção de diferentes poluentes em ambientes aquáticos, para que possa ser desenvolvida novas estratégias e medidas de políticas públicas para garantir uma preservação adequada dos recursos hídricos.

REFERÊNCIAS

- [1] AR Collins, O ensaio do cometa para danos e reparo do DNA: princípios, aplicações e limitações, Mol. Biotechnologia. 26 (2004) 249–261, <https://doi.org/10.1385/MB:26:3:249>
- [2] AR Collins, SJ Duthie, VL Dobson, Detecção enzimática direta de dano de base oxidativa endógena no DNA de linfócitos humanos, Carcinogênese 14 (1993) 1733–1735, <https://doi.org/10.1093/carcin/14.9.1733>
- [3] CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente, Brasil, Resolução n 357, 17 de março de 2005, Diário Of. Da União ao. (2005) 58-63
<http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747>
- [4] ISO, ISO 10993-5:2009 - Avaliação biológica de dispositivos médicos — Parte 5: Testes para citotoxicidade in vitro, (2009) 34. <https://www.iso.org/standard/36406.html>
- [5] M. Franzen, A. Mizusaki, M. Lelarge, T. Guerra, Impacto Antropogênico no Arroio Sapucaia (RS): Aplicação de Balanço de Massas aos Fluxos Hidrogeológicos e Índices de Contaminação ao nos Sedimentos, Rev. Bras. Repetir. Hídricos 11 (2006) 15–24, <https://doi.org/10.21168/rbrh.v11n1.p15-24>
- [6] RR Tice, E. Agurell, D. Anderson, B. Burlinson, A. Hartmann, H. Kobayashi, Y. Miyamae, E. Rojas, J. Ryu, YF Sasaki, ensaio de gel / cometa de célula única: diretrizes para testes de toxicologia genética in vitro e in vivo, Environ. Mol. Mutagênico. 35 (2000) 206–221, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2280\(2000\)35:3<206::AID-EM8>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2280(2000)35:3<206::AID-EM8>3.0.CO;2-J).