

AVALIAÇÃO DA ECOTOXICIDADE NA DEGRADAÇÃO DE MICROCISTINA – LR POR PROCESSOS OXIDATIVOS AVANÇADOS: UMA REVISÃO

Maria Virgínia da Conceição Albuquerque ¹
Maria Célia Cavalcanti de Paula e Silva ²
Amanda da Silva Barbosa Cartaxo ³
Valderi Duarte Leite ⁴
Wilton Silva Lopes ⁵

RESUMO

A ecotoxicologia é uma vertente da toxicologia e diferencia-se desta no sentido de que integra os conceitos de ecologia aos estudos de toxicidade, ou seja, é a ciência que estuda os efeitos adversos das substâncias naturais ou sintéticas e efluentes sobre os organismos vivos, quando liberadas no meio ambiente. Para avaliar a toxicidade de agentes químicos, é necessário realizar ensaios toxicológicos com organismos representativos de diferentes níveis tróficos. O conhecimento da toxicidade de substâncias tóxicas em diferentes organismos, possibilita estabelecer limites permissíveis destas substâncias para a proteção da vida e avalia o impacto que estes poluentes causam, permitindo estabelecer e avaliar critérios e padrões de qualidade das águas. Neste sentido, este estudo faz uma revisão da ecotoxicidade na degradação de microcistina –LR por processo oxidativo avançado. Utilizou-se como metodologia, a revisão de literatura de cunho qualitativo descritivo, que possibilitou um aprofundamento sobre o tema proposto. Dentre os trabalhos já realizados utilizando ensaios de ecotoxicidade antes e após tratamentos de degradação de microcistina – LR por processos oxidativos avançados, alguns apresentaram elevada toxicidade, outros indicaram que nenhum subproduto tóxico foi produzido pelo processo. Conclui-se que os ensaios de ecotoxicidade é uma ferramenta para a determinação de efeitos deletérios de agentes químicos sobre o meio ambiente, possibilitando a verificação dos mecanismos de ação sobre organismos vivos, definição de diretrizes para controle da qualidade de efluentes e avaliação da eficiência de processos de tratamento.

Palavras-chave: Tratamento avançado, Efeitos tóxicos, MC-LR.

¹ Doutoranda do Curso de pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, virginia.albuquerque@yahoo.com.br;

² Doutoranda do Curso de pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, celia_romulo@hotmail.com;

³ Doutoranda do Curso de pós Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, amandauepbio@hotmail.com;

⁴ Prof. Dr. do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, mangabeiraleite@gmail.com;

⁵ Professor orientador: Dr. do Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, wiltonuepb@gmail.com.

INTRODUÇÃO

Florações de cianobactérias são facilmente encontradas, devido ao crescente aporte de nutrientes nos corpos de águas naturais e artificiais, ocasionado pelos acelerados processos de eutrofização frutos da ocupação urbana e rural sem a observação de critérios mínimos. *Microcystis aeruginosa* é uma espécie de cianobactéria potencialmente produtora de cianotoxinas, especialmente a microcistina- LR, comumente associada a casos de intoxicação em escala mundial. Novas tecnologias para o tratamento de água têm sido implementadas para cumprimento dos padrões de potabilidade exigidos pela legislação.

Há algumas décadas a avaliação dos efluentes in natura ou da água já tratada sendo descrita e recomendada por métodos padrões de várias entidades internacionais como a Organização Internacional de Normalização (ISO), a Organização de Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), a Agência de proteção ambiental dos EUA (USEPA), dentre outras organizações de proteção ambiental. Entre os métodos utilizados estão os ensaios ecotoxicológicos que são bem analisados e em muitos países eles são uma ferramenta padrão para caracterizar a qualidade do efluente.

A ecotoxicologia é uma vertente da toxicologia e diferencia-se desta no sentido de que integra os conceitos de ecologia aos estudos de toxicidade, ou seja, é a ciência que estuda os efeitos adversos das substâncias naturais ou sintéticas e efluentes sobre os organismos vivos, quando liberadas no meio ambiente (CAMARGO, 2012). No Brasil, os ensaios ecotoxicológicos foram introduzidos na Resolução nº. 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA estabelecendo que o efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor e que os critérios de toxicidade devem se basear em resultados de ensaios de ecotoxicidade padronizados utilizando diferentes organismos, em diferentes níveis tróficos: organismos produtores (ex: algas), consumidores primários (ex: microcrustáceos), consumidores secundários (ex: peixes) e decompositores (ex: bactérias) (AREZON; PEREIRA NETO; GERBER, 2011).

Classificados em agudos ou crônicos (WIECZERZAK; NAMIEŚNIK; KUDLAK, 2016), os testes de toxicidade diferem principalmente quanto ao tempo de exposição do organismo teste ao agente ou substância a ser testada. Os testes de toxicidade aguda têm por objetivo mensurar a capacidade de determinadas substâncias químicas ou amostras ambientais,

de causar efeitos deletérios sobre os organismos teste, durante um curto período de tempo (24 a 96 h) em relação ao período de vida do organismo-teste. Geralmente, o efeito medido nesse tipo de teste é a letalidade ou alguma outra manifestação do organismo que a antecedeu, como a imobilidade. Os resultados são avaliados através da Concentração Letal Mediana (CL_{50}), que corresponde a concentração da substância tóxica responsável por provocar a mortalidade de 50% dos organismos teste; ou através da Concentração Efetiva Mediana (CE_{50}), relacionada a concentração da substância que causa imobilidade a 50% dos organismos teste (BRASIL, 2011).

Os efeitos adversos da exposição dos organismos teste a concentrações subletais, são observados em testes de toxicidade crônica, ou seja, avaliam as concentrações que permitem a sobrevivência dos organismos, mas que afetam suas funções biológicas (reprodução, desenvolvimento de ovos, crescimento e maturação) são avaliados por um período que pode abranger parte ou todo o ciclo de vida do organismo teste (WIECZERZAK, NAMIEŚNIK, KUDŁAK, 2016). Nestes testes, os resultados são expressos em Concentração de Efeito Não Observado (CENO), que corresponde a maior concentração da substância tóxica, que não causa efeito deletério estatisticamente significativo na sobrevivência e reprodução dos organismos nas condições de teste; e Concentração de Efeito Observado (CEO) que está relacionada a menor concentração nominal do agente tóxico, que causa efeito deletério (BRASIL, 2011).

Para avaliar a toxicidade de agentes químicos, é necessário realizar ensaios toxicológicos com organismos representativos de diferentes níveis tróficos. O conhecimento da toxicidade de substâncias tóxicas em diferentes organismos, possibilita estabelecer limites permissíveis destas substâncias para a proteção da vida e avalia o impacto que estes poluentes causam, permitindo estabelecer e avaliar critérios e padrões de qualidade das águas (ARAGÃO e ARAÚJO, 2006). Nos estudos do efeito agudo de produtos potencialmente tóxicos ao meio ambiente e aos seres humanos, são utilizados organismos-teste como peixes, microcrustáceos e microalgas, por serem sensíveis e representarem diferentes níveis tróficos (MA, 2001).

O uso de microalgas como indicador biológico é importante porque, como produtores primários, elas se situam na base da cadeia alimentar e qualquer alteração na dinâmica de suas em comunidades pode afetar os níveis tróficos superiores do ecossistema. Dentre as vantagens em se utilizar microalgas em testes de toxicidade podemos destacar sua grande sensibilidade às alterações ocorridas no meio ambiente e o seu ciclo de vida relativamente curto, o que possibilita a observação de efeitos tóxicos em várias gerações (REGINATTO, 1998).

O efeito de inibição sobre uma população de microalgas, após um intervalo de tempo, é determinado comparando-se o crescimento observado na presença de agente tóxico com o crescimento normal observado em um sistema livre de agente tóxico, o qual é chamado de controle, nestes testes, a temperatura e a luminosidade devem ser rigorosamente controladas porque podem afetar significativamente o crescimento das mesmas (COSTA et al, 2003). A resposta biológica inclui efeitos sinérgicos, antagônicos e aditivos de todos os componentes químicos e físicos que possam afetar a fisiologia e funções bioquímicas da microalga. Assim como as plantas, microalgas são organismos eucariontes, fotossintetizantes e que representam a base produtiva de matéria orgânica e energia nas cadeias e teias alimentares nos ambientes aquáticos.

Testes com *Daphnia sp.* são normalizados e padronizados internacionalmente pela OECD (Teste n° 202: *Daphnia sp.* Acute Immobilization Test, 2004) e pela ISO (ISO 6341:2012 - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test) e no Brasil pela NBR 12.713 (ABNT, 2016). Dentre as espécies do gênero, *Daphnia magna* (Straus, 1820) é a mais empregada em ensaios ecotoxicológicos para uma variada gama de compostos, bem como devido à sua importância ecológica, disponibilidade e facilidade para manejo em laboratório. Pesquisas apontam que as microcistinas causam inibição da atividade alimentar, diminuição no crescimento, baixo índice de reprodução, má formação de filhotes, diminuição do tempo de vida, estresse oxidativo e aumento da tolerância às toxinas ao longo de gerações (DAO; DO-HONG; WIEGAND, 2010; RODRIGUÉZ; DAO; WIEGAND, 2012).

Conhecido no Brasil como paulistinha, o *Danio rerio* é um peixe tropical de água doce, pertencente à família Cyprinidae e ordem Teleostei. Este peixe é um dos modelos mais utilizados em ensaios biológicos com vertebrados (ISO, 2007) e internacionalmente recomendado como organismo teste pela OECD (2016). O seu uso como organismo teste é justificado pelo fácil manuseio, tamanho pequeno da larva e do organismo adulto proporcionando redução dos custos dos experimentos, facilidade em se trabalhar com a fase embrionária, grande potencial de reprodução e similaridade genética com seres humanos (mais de 80%), o que permite a correlação dos dados obtidos (OLIVER et al., 2011; KRISHNARAJ; HARPER; YUN, 2016).

METODOLOGIA

Neste estudo utilizou-se como metodologia, a revisão de literatura de cunho qualitativo descritivo, que possibilitou um aprofundamento sobre o tema proposto. Pautando-se em publicações contidas em livros, jornais e revistas nacionais e internacionais, direcionados a área científica e acadêmica, sendo realizada uma busca bibliográfica por meio das fontes constituídas pelos recursos eletrônicos nas seguintes bases de dados: Web of Science, Scopus, Google Acadêmico e na biblioteca eletrônica Scientific Electronic Library Online (SciELO). As palavras chaves utilizadas para esta busca, foram: “microcistina – LR”, “processo oxidativo avançado” e “ecotoxicidade”, publicadas no período de 2010 a 2019.

A coleta das referências que foram aplicadas neste trabalho de Revisão da Literatura, aconteceu no decorrer dos meses de julho a setembro de 2019. Após identificados os documentos, estes foram analisados e os que atenderam aos objetivos do estudo, e estiveram sido publicados nos últimos 10 anos, foram utilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As microcistinas podem estar retidas dentro da célula ou serem liberadas através de lise celular em fase de senescência da floração no ambiente aquático, onde os animais são expostos a essas duas vias de exposição no ambiente. Diante disso, Santos (2017) estimou a toxicidade de células intactas e extrato bruto aquoso de células da linhagem *Microcystis aeruginosa* NPLJ-4 produtora de microcistina-LR, sobre cladóceros. Foram avaliados os efeitos sobre a mortalidade, idade da primeira reprodução, fecundidade média, total de neonatos, sobrevivência, crescimento somático e populacional de *Ceriodaphnia cornuta* e *Macrothrix spinosa*. Os animais foram mais sensíveis a células intactas. As duas vias de exposição afetaram os parâmetros populacionais dos cladóceros, porém as células intactas foram mais tóxicas. A taxa de crescimento somático dos animais não foi afetada pelo extrato bruto, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos e controle. Esses resultados mostram que a ingestão de células intactas é mais tóxica para os cladóceros que a exposição às toxinas liberadas na água. Com este estudo, observou-se o conhecimento das interações entre o zooplâncton e as cianobactérias tóxicas, sobretudo sob eventos de florações.

Dentre os trabalhos já realizados utilizando ensaios de ecotoxicidade antes a após tratamentos de degradação de microcistina – LR por processos oxidativos avançados, pode-se citar os estudos de VILELA et al., 2012, que investigaram o uso da fotocatalise heterogênea solar (TiO_2) na degradação de MC-LR e observaram a toxicidade aguda e crônica em ratos e através de testes *in vitro* de inibição da proteína fosfatase. Foram necessários 150 minutos de ensaios (pH 3) para reduzir de 10 para $1\mu\text{g.L}^{-1}$ de MC-LR. A toxicidade aguda presente na amostra inicial foi removida, porém, testes usando a enzima fosfatase indicaram a formação de subprodutos com efeitos crônicos em mamíferos.

Com concentrações determinadas de 5 mg.L^{-1} Fe (II) e 5 mg.L^{-1} H_2O_2 , PARK et al., 2016 avaliaram a degradação de microcistina-LR por processo de Fenton, bem como a toxicidade aguda utilizando como organismo teste a *Daphnia magna*. Os subprodutos intermediários de degradação de MC-LR apresentaram razão m/z 1029,5, 1011,5, 835,5, 795,4 e 783,4, estes associados à ligação dieno na cadeia Adda. Observou-se a toxicidade aguda para determinar o efeito adverso em neonatos de *D. magna* (idade, <24 h) dos subprodutos após o processo de Fenton e em água bruta. Foi constatado que o microcrustáceo *Daphnia magna* foi não afetado (imobilização = 0%, TU = 0) em todas as amostras, indicando que nenhum subproduto tóxico foi produzido pelo processo.

MÜLLER, 2017, avaliou a toxicidade e degradação de *Microcystis aeruginosa* e microcistina-LR, por POAS e nanopartículas de prata. No presente trabalho, os microcrustáceos *D. magna* foram submetidos aos ensaios apresentaram diferentes graus de toxicidade, quando avaliado o grau de mobilidade dos organismos. A amostra inicial em T0 (MC-LR= $146,7\mu\text{g.L}^{-1}$) não apresentou toxicidade aguda para *D. magna*. Com base no fator de diluição – FTd (a menor diluição em que a amostra não apresenta toxicidade) os tratamentos que obtiveram menor FTd foram o T2 (UV-C/ H_2O_2) e o T3 (UV-C/ $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{N}_{\text{Ag}}$), com FTd de 2, e porcentagem de imobilidade dos organismos de 70% e 50%, respectivamente. A toxicidade da água de estudo após o tratamento foi intensificada no T1 (UV-C), onde obteve-se FTd de 8, e porcentagem de imobilidade dos organismos de 30% na amostra sem diluição, 26,6% de imobilidade na amostra diluída na proporção 1:2, e 16,7% de imobilidade na diluição 1:4. No último caso analisado, o tratamento T6 (UV-C/ N_{Ag}) demonstrou alto grau de toxicidade, causando a imobilidade de 100% dos organismos-teste em todas as diluições analisadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de Processos Oxidativos Avançado (POAs) têm apresentado grande eficiência no tratamento de águas eutrofizadas e conseqüentemente na degradação de microcistina-LR e na redução da toxicidade. Contudo, muitos destes processos, avaliam a eficiência de tratamento apenas quanto à redução da concentração do composto, não considerando a toxicidade final dos subprodutos formados. O estudo toxicológico de micropoluentes, pré e pós-tratamento, é uma ferramenta para a determinação de efeitos deletérios de agentes químicos sobre o meio ambiente, possibilitando a verificação das características ecotoxicológicas de substâncias químicas, mecanismos de ação sobre organismos vivos, definição de diretrizes para controle da qualidade de efluentes e avaliação da eficiência de processos de tratamento. Desta forma, considerando a viabilidade dos processos oxidativos avançados na remoção de cianotoxinas, os mesmos necessitam serem estudados a fim de se obter maior eficiência de degradação associada à redução de toxicidade em diferentes níveis tróficos, e principalmente visando a mineralização de compostos não biodegradáveis possivelmente gerados durante o processo de desintoxicação.

REFERÊNCIAS

ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 12.713: **Ecotoxicologia aquática: toxicidade aguda - Método de ensaio com *Daphnia spp* (Crustacea, Cladocera)**. Rio de Janeiro, 2016.

ARAGÃO, M. A. e ARAÚJO, R.P.A. **Métodos de Ensaio de Toxicidade com Organismos Aquáticos**. Cap. 6, p: 117 – 152. 2006. In: ZAGATO, P.A. e BERTOLETTI, E. 2006. *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. São Carlos: Rima; 2006.

AREZON, A.; NETO, T.; GERBER, W. **Manual sobre toxicidade em efluentes industriais**. Porto Alegre: CEP SENAI de Artes Gráficas Henrique d'Ávila Bertaso, 2011.

BRASIL. **Resolução nº 430/ 2011 do CONAMA**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente–CONAMA. Brasília –DF: CONAMA, 13 de maio de 2011.

CAMARGO, R. C. Avaliação do potencial poluidor dos efluentes gerados em processo de fabricação de cervejas. 2012.98f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP, Ribeirão Preto, 2012.

COSTA, C. R. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão de métodos de avaliação. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 182-183, 2003.

DAO, T. S. et al. Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. **Toxicol**, v. 55, p. 1244 – 1254. 2010.

ISO: ISO 15088: Water quality — Determination of the acute toxicity of waste water to zebrafish eggs (*Danio rerio*). Informative Section, 2007. Disponível em: <<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15088:ed-1:v1:en>>. Acesso em: 05 jan. 2019.

KRISHNARAJ, C.; HARPER, S.; YUN, S. In Vivo toxicological assessment of biologically synthesized silver nanoparticles in adult Zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Hazardous Materials**, v. 301, p. 480-491, 2016.

MA, J.; LIANG, W. Acute toxicity of 12 herbicides to the green algae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 67, n. 3, p. 347-351, Sept. 2001.

MÜLLER, L. Avaliação da toxicidade e degradação de *M. aeruginosa* e Microcistina-LR, por AOPs e nanopartículas de prata. 2017. 100 f. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2017.

OECD: THE ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals: Proposal for Updating Guideline 208. Terrestrial Plant test: Seedling emergence and seedling growth test. 2006. Disponível em: <<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/33653757.pdf>>. Acesso em 09 jan. 2019.

OLIVER, A.; SANZ-LANDALUZE, J.; MUÑOZ-OLIVAS, R.; GUINEA, J.; CÁMARA, C. Zebrafish larvae as a model for the evaluation of inorganic arsenic and tributyltin bioconcentration. **Water Research**. v. 45, p. 6515-6524, 2011.

PARK, B. YANG, C. PARK, J-W. CHOI, CASE.M. VAN GENUCHTEN, S-H. LEE, Oxidation of Microcystin-LR by the Fenton process: Kinetics, Degradation Intermediates, Water Quality and Toxicity Assessment, **Chemical Engineering Journal**, v.309, p. 339-348 2017.

REGINATTO, V. Avaliação do ensaio de toxicidade com a alga *Scenedesmus subspicatus* para o estudo de efluentes industriais- **Tese de Doutorado**- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

SANTOS, A. S. A. Toxicidade de *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) produtora de microcistinas em cladóceros tropicais: investigação sob diferentes vias de exposição **Dissertação** - Programa de Pós Graduação em Ecologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PPGE/UFRPE), 66p., 2017.

VILELA, W. F. D. et al. Degradation of [D-Leu]-Microcystin-LR by solar heterogeneous photocatalysis (TiO₂). **Solar Energy**, v. 86, n. 9, p. 2746-2752, 2012.

WIECZERZAK, M.; NAMIESNIK, J.; KUDLAK, B. Bioassays as one of the Green Chemistry tools for assessing environmental quality: A review. **Environment International**, v. 94, p. 341-361, 2016.

YUAN, Q.; JIA, H.; POVEDA, M. Study on the effect of landfill leachate on nutrient removal from municipal waterwater. **J. Environ**, 2016.