



## ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICO, GENOTÓXICA E MUTAGÊNICA DE AMOSTRAS DE ÁGUAS SUPERFICIAIS NO RIO JACUÍ, RS/BRASIL QUE RECEBE DESPEJO DE EFLUENTE DE INDÚSTRIA CERVEJEIRA.

Nicolau, C. Caroline<sup>1</sup>, Garcia, Ana L. H.<sup>1</sup>, Matzenbacher, Cristina A.<sup>1</sup>, Silva, Marcela<sup>1</sup>, Silva, Juliana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Luterana do Brasil - Laboratório de Genética Toxicológica. Av. Farroupilha, 8001 Bairro São José CEP: 92425-900 Canoas/RS, Brasil.

### INTRODUÇÃO

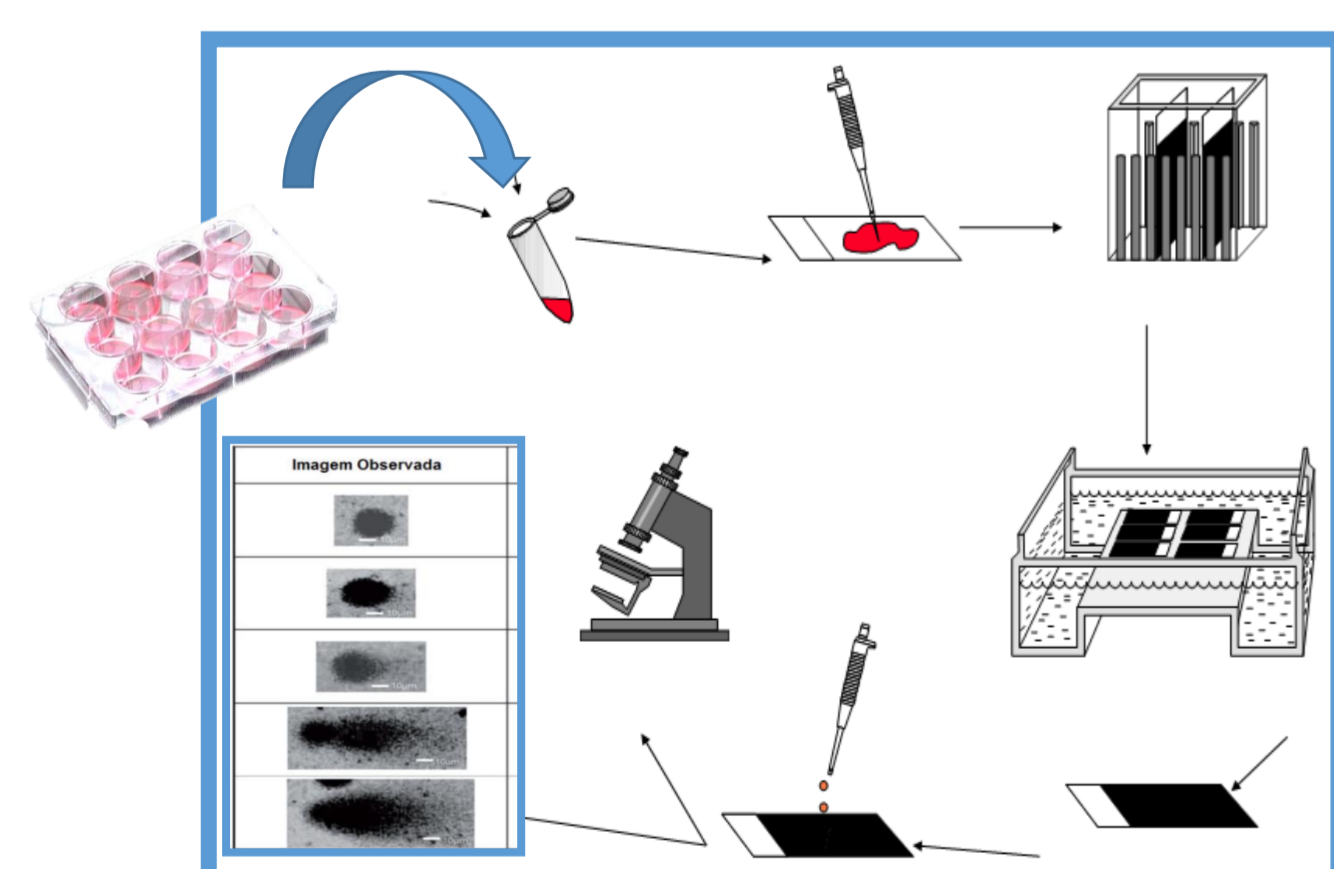
A contaminação da água possui diferentes fontes de poluição, sejam elas oriundas de descargas de efluentes, atividades agrícolas e esgotos domésticos. Os efluentes industriais se caracterizam por gerar enorme carga poluidora composta por resíduos potencialmente tóxicos prejudiciais ao ambiente aquático. Efluente de indústria cervejeira é rico em matéria orgânica, fósforo, nitrogênio e elementos inorgânicos. Esta mistura complexa liberada no ambiente deve ser investigada para identificar os possíveis efeitos genotóxicos e mutagênicos que estes contaminantes podem causar.

### OBJETIVO

Esse estudo teve como objetivo avaliar a composição físico-químico dos efluentes, genotoxicidade através do Ensaio Cometa e mutagenicidade através do Teste de Micronúcleos em células V79, em três locais no Rio Jacuí (RS; Brasil) sob a influência de despejo de efluentes industriais, principalmente da indústria cervejeira.

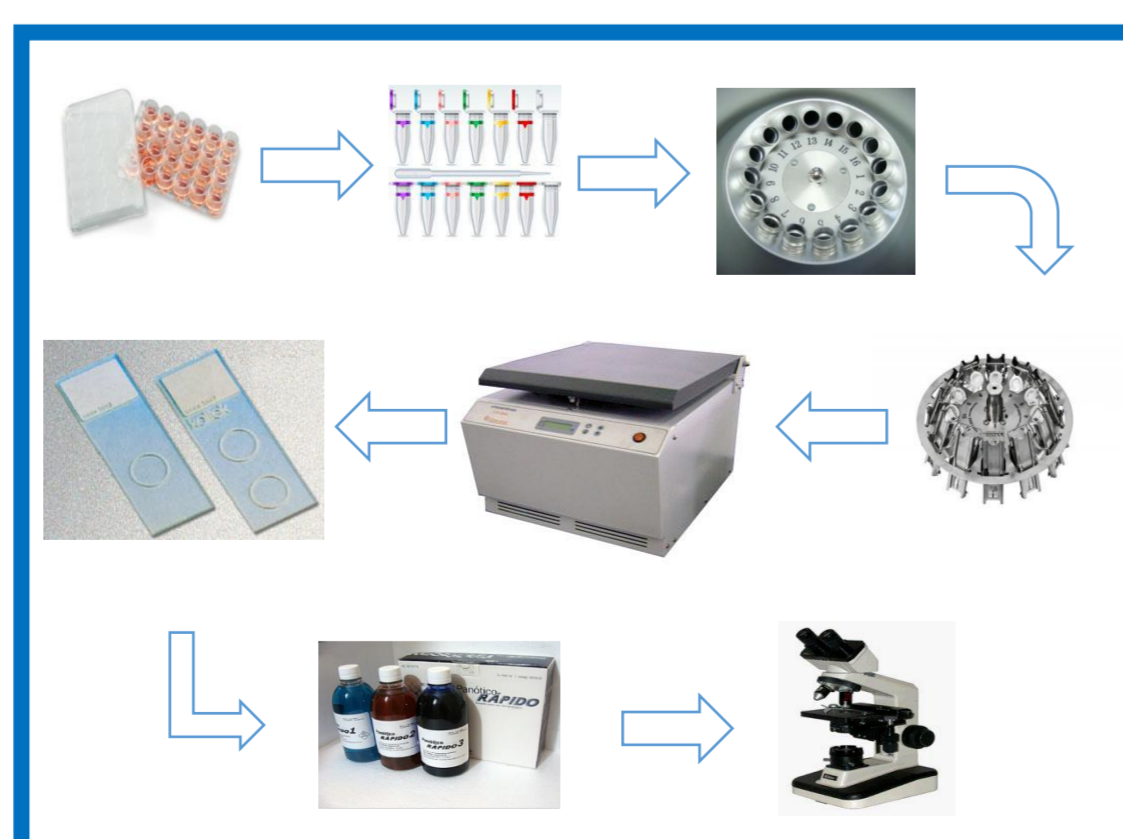
### MATERIAIS E MÉTODOS

Os locais escolhidos no rio para coleta de água superficial foram: Local B, antes do local de despejo de indústria cervejeira (1 Km); Local C, em frente ao local de despejo do efluente (após tratamento químico e biológico); Local D, logo após o local de despejo, cerca de 1 km. Inicialmente as amostras foram submetidas as análises físico-químicas de diferentes parâmetros para comparar com padrões da legislação ambiental. Estas amostras de águas foram colocadas em contato com células de fibroplastos de pulmão de hamster chinês (V79) durante 3hs para o Ensaio Cometa e Teste de micronúcleos, utilizando 10% do volume das amostras em cada poço. Para o Ensaio Cometa Alcalino (pH>13) foram analisadas 100 células por poço (6 poços por amostra), as lâminas foram submetidas a eletroforese e coradas com nitrato de prata e analisadas em microscópio óptico, avaliando dano ao DNA de 0 a 4. Para o Teste de micronúcleos foi utilizado citocolasina-B (4 poços por amostra) afim de inibir a citocinese e permitir a análise do índice de divisão celular (500 células por lâmina), frequência de micronúcleos, identificação de pontes nucleoplasmáticas, brotos nucleares, necrose e apoptose em células binucleadas (1000 células binucleadas por lâmina).



Fluxograma Cometa

Fluxograma Micronúcleo



### RESULTADOS

As análises físico-químico dos três pontos de coleta, apresentaram resultados dentro dos limites estabelecidos com a legislação pertinente (Tabela 1). Os resultados do ensaio cometa demonstraram genotoxicidade induzida pelas amostras de água superficial coletada nos três locais (P<0,05; ANOVA, Dunnet (Figura 1). O local de coleta C induziu efeito mutagênico em células V79 (P<0,05; Kruskal-Wallis) (Tabela 2).

Tabela 1. Análises obtidas dos parâmetros físico-químicos de amostras de águas coletadas em três locais no rio Jacuí-RS.

Parâmetros	Local B	Local C	Local D
Temperatura ambiente (°C)	26	26	25
Temperatura água (°C)	25,78	25,36	25,30
Profundidade (metros)	4,7	7,6	5,7
Turbidez (UNT)	16	17	16
Alcalinidade (mg/L)	26,12	31,34	31,34
Dureza (mg/L)	30,60	35,70	45,90
Cloreto total (mg/L)	nd	nd	nd
pH	7,46	7,06	7,02
Matéria Orgânica (mg/L)	4,36	4,00	3,36
Sólidos Totais (mg/L)	121	123	107
Condutividade (µS/cm)	60	80	70
Demanda Bioquímica de Oxigênio - DBO (mg/L O <sub>2</sub> )	<2	2	<2
Demanda Química Orgânica (DQO) (mg/L O <sub>2</sub> )	8	13	13
Fósforo Total (mg/L)	0,026	0,080	0,063
Nitrato (mg/L)	0,74	0,85	0,59
Nitrito (µg/L)	43,17	44,10	48,14
Sulfato (mg/L)	nd	nd	nd
Surfactantes	nd	nd	nd
Óleos e Graxas (mg/L)	213 mg/L	127 mg/L	592 mg/L

nd: menor que o Limite de Detecção.

Tabela 2. Frequência de micronúcleos (MN), pontes nucleoplasmáticas (NPB), brotos nucleares (NBUD), índice de divisão nuclear (NDI), células binucleadas (BN), células apoptóticas e células necróticas no ensaio CBMN-Cit com cultura de células V79 tratadas com amostras de águas superficiais do Rio Jacuí/RS.

Parâmetros	Controle Negativo <sup>a</sup>	Local B	Local C	Local D	Controle Positivo <sup>b</sup>
<b>Proliferação celular (1000 células)</b>					
NDI	1,77 ± 0,07	1,83 ± 0,04	1,73 ± 0,02	1,81 ± 0,03	1,83 ± 0,04
BN	650,25 ± 53,39	619,25 ± 10,04	591,00 ± 9,83	568,00 ± 83,09	656,25 ± 42,37
<b>Dano ao DNA (2000 binucleadas)</b>					
MN	5,50 ± 3,79	10,50 ± 1,91	18,00 ± 9,52*	11,75 ± 3,30	26,25 ± 10,14**
NPB	2,50 ± 1,73	1,50 ± 1,29	4,00 ± 2,16	3,25 ± 1,26	3,50 ± 0,58
NBUD	1,50 ± 1,73	1,75 ± 2,06	3,75 ± 1,50	2,50 ± 2,08	2,50 ± 2,08
<b>Morte celular (2000 células)</b>					
Apoptose	0,05 ± 0,58	1,25 ± 0,50	1,25 ± 0,50	1,00 ± 0,82	2,00 ± 2,16
Necrose	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,50	0,00 ± 0,00	0,25 ± 0,50	3,50 ± 2,52

<sup>a</sup> Meio de cultura; <sup>b</sup> MMS (0,25 mM); \* P<0,05; \*\* P<0,01; em relação ao controle negativo; ANOVA/Kruskal Wallis.

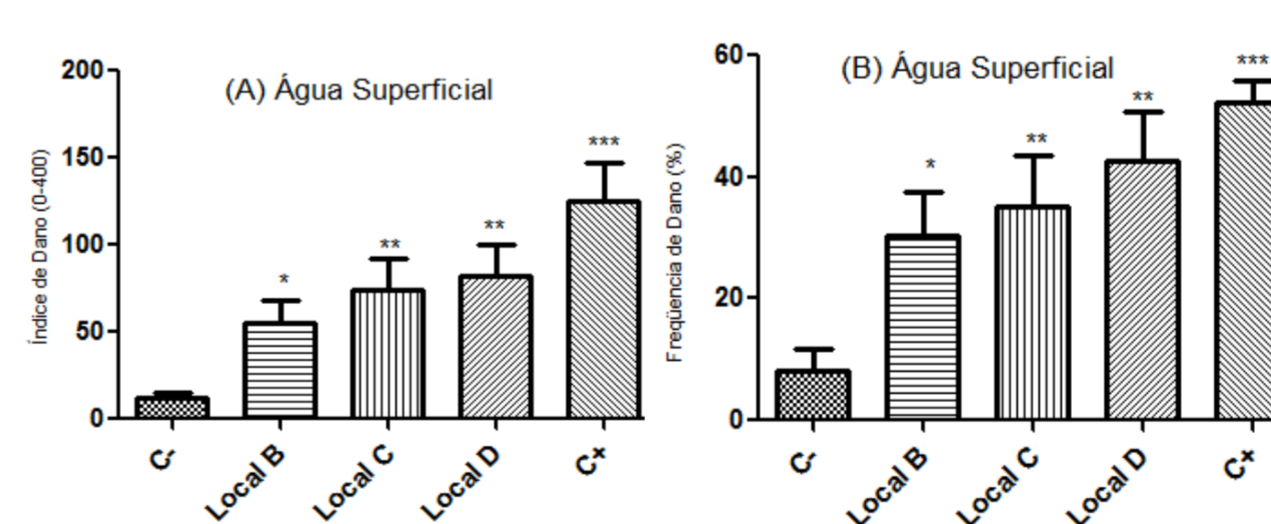


Figura 1. Índice de dano e frequência de dano (%) ao DNA observados através do Ensaio Cometa em amostras de águas superficiais expostas em células V79. Dados apresentados com média ± desvio padrão. Dados transformados. \* P<0,05; \*\* P<0,01; \*\*\* P < 0,001 em relação ao controle negativo; ANOVA/Dunnet.

### CONCLUSÕES

As amostras de água superficial nos três pontos de coleta estão dentro dos padrões físico-químicos permitidos na legislação ambiental, entretanto demonstraram danos genotóxicos em todos os locais (B, C e D) e potencial mutagênico no local C quando expostas as células V79. Diante destes resultados existe a necessidade de continuar buscando soluções para identificar e diminuir a quantidade de compostos potencialmente causadores de danos genotóxicos e mutagênicos oriundos de efluentes industriais no Rio Jacuí/RS.

Apoio: FAPERGS, CNPq, ULBRA