



AVALIAÇÃO GENOTÓXICA DO EFLUENTE TÊXTIL BRUTO SOBRE *Rhamdia quelen* POR ENSAIO COMETA

GENOTOXIC EVALUATION OF RAW TEXTILE EFFLUENT ON *Rhamdia quelen* BY COMET ASSAY

Jaine Sguissardi*,

Marina Wust Vasconcelos‡, Nédia de Castilhos Ghisi†

RESUMO

As indústrias têxteis estão entre as maiores geradoras de resíduos poluentes. O efluente têxtil é um resíduo complexo, de difícil degradação que contém substâncias xenobióticas, quando em contato com os corpos hídricos, podem causar danos à saúde da biota aquática e impactos ambientais. O presente estudo tem por objetivo avaliar a quantidade de danos que o efluente têxtil bruto pode causar ao material genético, de animais expostos. Com isso foram submetidos 180 peixes da espécie *R. quelen*, divididos em 18 caixas de 60 litros, à exposição subcrônica nas concentrações de 0%; 1,25%; 2,5%; 5,0%; 7,5% e 10% do efluente bruto por 7 dias em condições controladas. Foi coletado tecido sanguíneo e hepático dos indivíduos, armazenado em soro bovino fetal e posteriormente submetidos ao teste de eletroforese em gel de célula única, comumente conhecido como ensaio cometa. As lâminas foram coradas a base de brometo de etídio, analisando 100 nucleotídeos/lâmina, seguindo contagem de danos de 0 até dano 4. Resultados obtidos foram significativo no quesito causador de danos ao DNA, resultado não significativo em relação as concentrações utilizadas. Com isso conclui-se que o efluente têxtil em sua composição bruta é potencial tóxico em concentrações baixas, causando danos no material genético.

Palavras-chave: Poluente, Genotóxico, Ensaio Cometa.

ABSTRACT

Textile industries are among the biggest generators of polluting waste. Textile effluent is a complex, difficult-to-degradation waste that contains xenobiotic substances, when in contact with water bodies, they can cause damage to the health of aquatic biota and environmental impacts. This study aims to evaluate the amount of damage that raw textile effluent can cause to genetic material from animals in contact. Thus, 180 fish of the species *R. quelen*, divided into 18 boxes of 60 liters, were subjected to subchronic exposure at concentrations of 0%; 1.25%; 2.5%; 5.0%; 7.5% and 10% of raw effluent for 7 days under controlled conditions. Blood and liver tissue was collected from the individuals, stored in fetal calf serum and later submitted to the single-cell gel electrophoresis test, commonly known as the comet assay. The slides were stained with ethidium bromide, analyzing 100 nucleotides/slide, following damage count from 0 to damage 4. The results obtained were significant in terms of damage, a non-significant result in relation to the concentrations used. Thus, it is concluded that the textile effluent in its gross composition is toxic in low concentrations, causing damage to the genetic material.

Keywords: Pollutant, Genotoxic, Comet Assay.

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Paraná Brasil; nediaghisi@utfpr.edu.br

‡ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos, Paraná Brasil; jainesguissardi04@gmail.com



1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento gradativo da população humana e a alta procura por empregos, a indústria têxtil acompanha esse gradiente, e vem se destacando em crescimento e geração de empregos com um forte potencial econômico (ABIT, 2018). No entanto, além de se destacar no quesito socioeconômico, está entre as indústrias mais poluentes, e geradoras de resíduos. Segundo dados da resolução CONAMA N° 237, de 19 de dezembro de 1997 o efluente têxtil gerado durante todo o processamento, principalmente na etapa de tingimento, é considerado como um poluidor danoso ao meio ambiente, principalmente em seu estado bruto onde possuem altas quantidades de corantes e substâncias recalcitrantes e tóxicas ao meio ambiente e sua biota.

O tema a ser trabalhado neste projeto, é a avaliação da genotoxicidade do efluente têxtil em sua composição bruta, e analisar os danos genético causados em células sanguíneas, através do ensaio cometa. Contabilizar as taxas de danos causados pelo efluentes em seu estado bruto e buscar entender se as concentrações subletais ao qual os peixes da espécie *Rhamdia quelen* foram submetidos por sete dias é capaz ou não de gerar danos genéticos.

Compostos químicos sempre podem apresentar riscos aos ambientes e a biota aquática, pois estes podem interagir com outras substâncias causando um potencial altamente tóxico. Segundo a resolução 001 de 23 de janeiro de 1986 do CONAMA, Art. 1° relata risco ambiental como “qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente”. Desta forma, todas as atividades que venham a causar danos à vida e segurança dos seres aquáticos, e também a sanidade e bem-estar da população em contato direto ou indiretamente é considerada como risco ambiental (CONAMA, 1986)

De acordo com Revankar (2007) a grande maioria da poluição através de corantes é oriunda de efluentes têxteis. A legislação ambiental brasileira possui critérios de descartes destes efluentes nos corpos d'água, de modo que não seja danoso à saúde e qualidade da biota aquática, mantendo equilíbrio ecológico (CONAMA n° 430/2011). Corantes utilizados nas indústrias têxteis podem ter sua origem tanto de fontes sintéticas ou naturais, sendo orgânico ou inorgânico, o qual tem por função dar cor as fibras. No entanto, a mesma característica que o permite fixar a superfície dos tecidos e ali permanecer por longo tempo, também é responsável por sua alta recalcitrância e toxicidade (BANAT et al., 1996).

De acordo com o Estado Real das águas no Brasil- CIRRA (2003 e 2004) a contaminação aquífera teve um gradiente de aumento significativo no que diz respeito a despejo de matérias tóxicas e resíduos industriais. Também a significativa quantidade de água utilizada nos processos e a mistura de solventes, corantes, detergentes e demais aditivos químicos em suas determinadas etapas de processamento, tornando assim a água inadequada para qualquer outra maneira de reutilização. Dentre estas indústrias se destaca a têxtil pela utilização de grandes concentrações de corantes em seus processos de tingimentos, além disso gera grande quantidade de sólidos suspensos, de metais pesados, compostos orgânicos e surfactantes (ARAUJO; YOKOYAMA, 2006).

Diante do problema destacado e do descarte desses resíduos serem feitos em corpos hídricos, buscou-se responder através realização do experimento com peixes expostos a diferentes concentrações do efluente bruto a seguinte perguntas, qual é a quantidade de danos que o efluente têxtil em sua composição bruta pode causar ao material genético, de animais em contato a esse agente poluidor?

Diante disto a presente pesquisa teve por objetivo analisar a genotoxicidade do efluente têxtil de uma indústria de produção de jeans em sua composição bruta sobre o bioindicador *Rhamdia quelen*, popularmente conhecido como Jundiá. Analisar os danos genéticos em células sanguíneas através de ensaio cometa



ocasionados pelo efluente têxtil. E analisar a relação de danos sub-letais em comparação com a diluição do efluente e o tempo de exposição.

2 MÉTODO

O efluente têxtil utilizado na pesquisa foi coletado em uma indústria de jeans localizada no sudoeste do estado do Paraná. Para resguardar todos os envolvidos optou-se, em comum acordo, em manter o sigilo do nome, razão social e CNPJ da empresa. Foi utilizado amostras de efluente em sua forma bruta.

Antecipadamente foram realizados teste de verificação de toxicidade aguda do efluente têxtil na espécie animal *Rhamdia quelen*. Posteriormente foi realizados bioensaios sobreagudos para testes de genotoxicidade através do ensaio cometa. Os exemplares de *Rhamdia quelen* foram adquiridos em uma piscicultura comercial, sendo todos exemplares juvenis, de ambos os sexos pensando entre 3,00 a 1,2 gramas.

O projeto foi previamente submetido e aprovado a Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa, pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEUA-UTFPR) descrito sob protocolo de nº 2019-27. Os peixes após serem obtidos foram levados até a UNEPE piscicultura da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Dois Vizinhos, e conforme a literatura de Tavares-Dias (2015) foram acondicionados a um banho salino (9%) por aproximadamente 20 minutos. Em seguida foram aclimatados em condições controladas de aeração e temperatura, e alimentados duas vezes ao dia com ração controlada a 1,5% da biomassa, por um período de no máximo 15 dias.

O experimento teve início no mês de Fevereiro de 2020. Para diluição do efluente foram utilizados os dados da CL_{50} previamente quantificado, onde foram aclimatados 180 peixes de ambos os sexos para o teste sub-letal por 7 dias em concentrações de efluente de 1,25%, 2,5%, 5%, 7,5% e 10% e também o controle. Os 180 peixes serão divididos em 18 caixas de 60 litros de polietileno em grupos de 10 indivíduos, contendo 3 réplicas para cada concentração. O efluente foi adquirido um dia antes da exposição e mantido em sala climatizada até o momento das diluições. As diluições foram feitas diretamente na água do experimento. Os peixes foram alimentados uma vez ao dia com ração controlada a 1,5% da biomassa, as condições foram controladas bem como, temperatura, oxigenação e uma vez ao dia foram aferidos os parâmetros de nitrito, amônia e pH, o bioensaio seguiu as normas do protocolo descrito na NBR-5410 de 2016.

Segundo Instrução Normativa da CONCEA (2018) ao fim das exposições os peixes foram anestesiados com cloridrato de benzocaína 100 mg/L. Foi coletado sangue por punção no coração para as análises genotóxicas e posteriormente foram submetidos a eutanásia para coleta de outros materiais biológicos.

Para realização do ensaio cometa foi utilizado uma amostra de sangue por punção cardíaca com seringa previamente heparinizada, as mesmas foram armazenadas em soro bovino fetal e refrigerada. Em seguida foi feito a desagregação com o auxílio do microhomogenizador, foram suspensas a agarose de baixo ponto de fusão e então alocadas para uma lâmina de vidro, já previamente cobertas com uma camada de agarose normal (FERRARO, 2009).

Segundo a literatura de Ferraro (2009) as mesmas lâminas foram submetidas a uma solução de lise em refrigeração, posteriormente a uma corrida de eletroforese. Ao serem analisadas foram coradas a base de Brometo de etídio, onde analisadas contabilizando-se 100 nucleoides por lâmina em microscopia de fluorescência. A análise foi feita em decorrência da fragmentação do DNA, em que nucleoides com um diâmetro mais agrupado será considerado dano 0 (sem danos) posteriormente dano 1, dano 2, dano 3 e dano 4

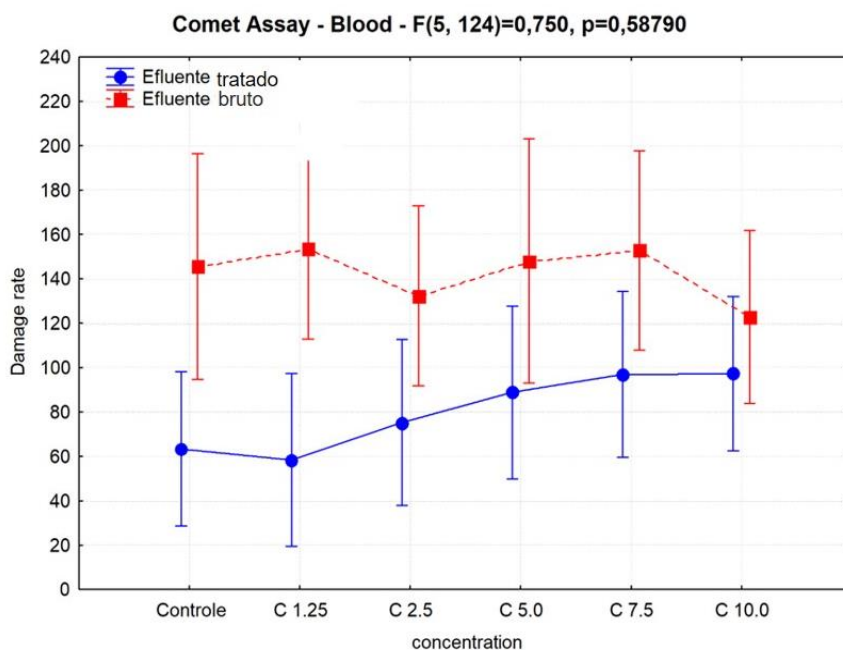
(apoptose celular). Esta análise será feita através do deslocamento dos fragmentos de DNA remetendo uma cauda de cometa.

Posteriormente as lâminas analisadas, foi contabilizado as taxas de danos e submetido ao software de estatística ANOVA bifatorial, onde pode-se analisar os danos causados ao DNA de tecido sanguíneo ocasionado pelo efluente têxtil em sua forma bruta.

3 RESULTADOS

Após as análises serem feitas, as taxas de danos foram submetidos a estatística, onde os dados obtidos representados no gráfico (figura 1), voltado a linha da taxa de dano, apresentou cerca 160%, assim, apresentam resultados significativo voltado a os danos causados pelo efluente têxtil no DNA de tecido sanguíneo de *R. quelen*, e resultado não significativo em comparação as concentrações do efluente testado, ou seja não houve diferença de danos em cada uma das concentrações, de 1,25% a 10% do efluente têxtil em sua forma bruta.

Figura 1: Gráfico estatístico, apresentando os danos causados pelo efluente têxtil em DNA, através da análise ensaio cometa.



Fonte: Autoria Própria (2020)

Testes de genotoxicidade são de grande importância para analisar os efeitos danosos causados por poluentes à natureza. Essas avaliações podem vir a trazer alertas sobre a genotoxicidade de efluentes não tratados ao sistema biológico (RANI et al., 2020). Visto que o efluente têxtil em seu estado bruto pode causar danos ao DNA mesmo em concentrações baixas para a espécie testada, muitos estudos vem sendo feitos acerca dos potenciais efeitos tóxicos do efluente têxtil pois demanda uma importância econômica e ambiental. Segundo Liang et al., (2018) reconhecem diferenças toxicas e genotóxicas quando duas espécies diferentes ou



mais são expostas a este agente poluidor, bem como variação de toxicidade de águas residuais pelo tingimento de tecidos das indústrias têxteis.

Neste contexto alguns estudos apresentam relatos de toxicidade e de danos ao material genético em diferentes espécies bioindicadoras quando expostas ao efluente têxtil. Garcia (2018) realizou testes de genotoxicidade aguda durante 48 horas ao bioindicador *Daphnia similis* expostas ao efluente têxtil, o que resultou em concentração efetiva mediana de 0,61% de volume por volume do efluente têxtil, considerando-o muito tóxico para os organismos, visto que ausou imobilidade e danos severos ao material genético. Garcia; Rosa; Borrely, (2020) também ressaltam o efluente têxtil como muito tóxico e de grande genotoxicidade ao material genético em concentrações de 0; 2,5; 5; 7,5 e 10 utilizando como bioindicador crustáceos e bactérias.

Diante disso estudos de Oost & Beyer (2002) danos genotóxicos tendem a se manifestar autamente posterior a longos periodos de exposição a um agente poluente. Dentro de um sistema biológico possui uma sequência de resposta ao estresse causado por esse agente poluidor. Os danos mais precoces são visualizados a níveis moleculares e celulares, em contexto ambiental esses biomarcadores são obtidos como sensíveis, demonstram que o poluente em contato com o organismo é distribuído aos tecidos ocasionando efeitos tóxicos.

4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados acima pode-se observar que o efluente têxtil em sua composição bruta vem a ser tóxico em concentrações baixas, quando expostos a biota. Vem causando danos no material genético significativo ao tempo de exposição, assim podendo causar desequilíbrio na cadeia trófica e também trazendo danos a nível de ecossistema aquático. Assim como esperado são poluentes recalcitrantes e genotóxicos.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela bolsa de apoio de recursos financeiros, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná- Campus Dois Vizinhos, pelo apoio e pelos laboratório de pesquisa utilizados, Multiusuário de Análises Biológicas e Biomol.

REFERÊNCIAS

CNI (Confederação Nacional da Indústria); ABIT (Associação Brasileira da Indústria Têxtil e de Confecções). **O Setor Têxtil e de Confecção e os Desafios da Sustentabilidade**. Brasília, 2018. Disponível em: <https://bucket-gw-cni-static-cms-si.s3.amazonaws.com/media/filer_public/bb/6f/bb6fdd8d-8201-41ca-981d-deef4f58461f/abit.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2021.

CONAMA. **Resolução Conama n. 001 de 23 de Janeiro de 1986**. Dispõe sobre critérios básicos e diretrizes gerais para a avaliação de impacto ambiental. Alterada pela Resolução nº 11/86 (alterado o art. 2o). Alterada pela Resolução no 5/87 (acrescentado o inciso XVIII). Alterada pela Resolução nº 237/97 (revogados os art. 3o e 7o). Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 1986. Disponível em: <http://www2.mma.gov.br/port/conama/legislacao/CONAMA_RES_CONS_1986_001.pdf>. Acesso em: 03 ago.2021



REVANKAR, M. S.; LELE, S. S. **Synthetic dye decolorization by Ganoderma sp. WR-1.** Bioresource Technology,. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução nº430, de 13 de maio de 2011. **Condições e padrões de lançamento de efluentes.** 2011.

BANAT, I. M. et al. **Microbial Decolorization of Textile Dye-Containing Effluents: A Review.** Bioresour. Technol., 58, 217. 1996

CIRRA – Centro Internacional de Referência em Reúso de Água; FCTH – Fundação Centro Tecnológico de Hidráulica. Conservação e Reúso de água – **Manual de Orientações para o Setor Industrial.** v. 1. São Paulo: FIESP e CIESP, 2004

ARAUJO, F. V. F.; YOKOYAMA, I. **Remoção de Cor em soluções de corantes reativos por oxidação com H₂O₂/UV.** Química Nova, Vol. 29, No. 1, 11- 14, 2006.

CONCEA. **Diretriz da Prática de Eutanásia do CONCEA Diário Oficial da União de 22/02/2018 (nº 36, Seção 1, pág. 5).** Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, Brasil, 2018. Disponível em: <https://ceua.ufop.br/sites/default/files/ceua/files/resolucao-normativa-n-37-diretriz-da-pratica-de-eutanasia_site-concea.pdf?m=1534249510>. Acesso em: 7 ago 2021

FERRARO, M. V. M. **Avaliação de três espécies de peixes - Rhamdia quelen, Cyprinus carpio e Astyanax bimaculatus, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios: cometa e dos micronúcleos.** 2009. 189 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

RANI, E. G. D. S. et al. Survival Assessment of Simple Food Webs for Dye Wastewater After Photocatalytic Degradation Using SnO₂/GO Nanocomposites Under Sunlight Irradiation. **Science of the Total Environment**, [S.l.], v. 721, [S.n], p. 137805, 1-9, mar. 2020.

LIANG, J. et al. Toxicity evaluation of textile dyeing effluent and its possible relationship with chemical oxygen demand. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Guangzhou, v. 166, [S.n.], p. 56–62, ago. 2018.

GARCIA, V. S. G. et al. Estudo Sobre Toxicidade do Efluente e do Consumo Hídrico e Energético no Tingimento de Poliamida. In: 15º Congresso Nacional de Meio Ambiente. 15., 2018.