



# Testes De Toxicidade Em Sementes – Influência Do Material Particulado

**Palavras-Chave:** poluição atmosférica, extração, toxicidade

**Autores/as:**

**CAROLINE DE OLIVEIRA RODRIGUES FT-UNICAMP**

**Prof./<sup>a</sup> Dr./<sup>a</sup> MARTA SIVIERO GUILHERME PIRES (orientadora) FT-UNICAMP**

**Prof./<sup>a</sup> Dr./<sup>a</sup> SIMONE ANDRÉA POZZA (coorientadora) FT-UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO

Há tempos que a poluição atmosférica vem acompanhando a trajetória da humanidade, acentuando as preocupações dos efeitos adversos, a partir do momento em que o ambiente passou a ser intensamente modificado por conta do aumento da concentração de pessoas em locais urbanos de elevada densidade demográfica, decorrente da Revolução Industrial. O cenário atual pautado no modelo econômico de desenvolvimento tecnológico e de consumo, com intensificação das atividades industriais, tráfego veicular e consequente geração de resíduos das ações cotidianas, são um dos principais agentes poluidores e de preocupação global (SILVA & VIEIRA, 2017).

Dentre a vasta quantidade de substâncias poluentes presentes na atmosfera, é possível dividi-las em dois grupos principais: os poluentes primários, que são aqueles dados diretamente pela sua fonte de emissão; e os poluentes secundários, oriundos de reações químicas entre os poluentes primários e substâncias que estão naturalmente presentes na atmosfera, como  $N_2$  e  $O_2$ , por exemplo (CETESB, 2021).

O material particulado (MP) ou aerossol atmosférico, é definido como partículas finas sólidas ou líquidas suspensas em um gás (SEINFELD & PANDIS, 2006). O MP pode ser dividido em quatro classes,  $MP_{0,1}$  - partículas ultrafinas ( $d_1 \leq 0,1 \mu m$ ),  $MP_{2,5}$  - partículas inaláveis finas ( $d \leq 2,5 \mu m$ ),  $MP_{10}$  - partículas inaláveis grossas ( $d \leq 10 \mu m$ ) e PTS - partículas totais em suspensão ( $d \leq 50 \mu m$ ) (SOUZA, 2015).

Além da sua complexidade de formação, há uma grande variação da composição química dos materiais particulados, essa sendo dependente de fatores como fontes de emissões existentes no local em questão e reações químicas resultantes das interações das substâncias presentes na atmosfera. (QUEIROZ et al., 2007).

De modo geral, na composição química do MP podem estar presentes poeira mineral, metaloides, sais marinhos, íons inorgânicos solúveis em água ( $Na^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Ca^{2+}$ ,

Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, dentre outros), compostos orgânicos (HPAs, carbono elementar, dentre outros) (BRITO et al., 2018). São apresentados, na Tabela 1, alguns estudos da literatura que detectaram metais traço em amostras de MP.

Uma forma de avaliar os efeitos dos poluentes atmosféricos na biota, é utilizando ensaios de toxicidade, como os testes de sementes. Esses ensaios apresentam como vantagens viabilidade econômica, rapidez e facilidade de aplicação. Dentre estes, o teste de germinação e crescimento de raiz em sementes é uma opção para obter

Local de coleta	Referência	Elementos Identificados	
		MP <sub>10</sub>	PTS
Sete Lagos - MG	Queiroz et al. (2007)	Al, Cl, Cu, Fe, K, Mg e Na	Na, Ba, Cl, Cu, Eu, Fe e Sm
Limeira - SP	Souza (2015)	Ca, Cu, Fe, Mg, Mn e Na	
Volta Redonda - RJ	Oliveira et al. (2021)	-	Fe, Ca, Si, Al, Mg, Cl, Zn, Rb, Pb, Cu, Sr, V e Zr

informações ecotoxicológicas a respeito de poluentes que possam causar toxicidade, além de ser uma metodologia que apresenta resultados confiáveis e é recomendada pela EPA e CETESB (VALERIO et al., 2007; VISIOLI et al., 2014). Vale ressaltar que a escolha do método de extração dos poluentes irá influenciar nos resultados de análises toxicológicas, uma vez que a composição e bioatividade das amostras extraídas irão variar de acordo com o método adotado (ROPER et al., 2019).

Este trabalho teve como principal objetivo fazer uma revisão bibliográfica acerca de diferentes metodologias de extração destinadas para análises toxicológicas e quais os efeitos da poluição atmosférica sobre a vegetação, com enfoque em trabalhos que evidenciassem os efeitos do extrato do material particulado coletado sobre sementes.

## **METODOLOGIA**

Para a realização do trabalho foram levantados dados bibliográficos dos trabalhos encontrados na literatura acerca da influência dos poluentes atmosféricos sobre o desenvolvimento de culturas como alface e rúcula, em relação à toxicidade. As pesquisas foram realizadas em dois temas principais:

- Revisão bibliográfica sobre as metodologias de extração de materiais particulados para uso em análises toxicológicas e,
- Levantamento de estudos realizados sobre toxicidade dos poluentes atmosféricos.

A escolha do primeiro foco de revisão foi dada de acordo com a limitação de uma metodologia específicas e padronizada para extração de material particulado destinada às análises toxicológicas em sementes. Já o segundo foco tentou trazer a visão do cenário atual de pesquisas que abordem as análises toxicológicas em sementes frente a poluição atmosférica.

Essas informações foram obtidas através de pesquisas em bases de dados e fontes de informações como: Science Direct, SciFinder, Companhia Estadual do Estado de São Paulo (CETESB), SBU UNICAMP. As principais palavras chaves utilizadas em diferentes combinações

nas buscas foram: “influence”; “atmospheric”; “air”; “pollution”; “seed”; “germination”; “toxicological”; “extraction”; “methods”; “PM”; “toxicity”; “lattice”, sendo pesquisadas no período de 2020 a 2021.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de determinar a toxicidade dos poluentes atmosféricos utilizando sementes, é necessário, após coletar os materiais particulados através de equipamentos destinados para tais feitos, extrair as substâncias que ficaram aderidas nos filtros. Na Tabela 2, constam quatro metodologias de extração presentes na literatura, bem como do tipo de filtro, equipamentos utilizados para coleta, local de coleta e tamanho de partícula do MP.

**Tabela 2 – Diferentes metodologias de extração de MP presentes na literatura**

Autor/Local	Meio filtrante e coletor utilizados	Tamanho do MP	Solvente para extração		Método de extração
Tang et al. (2020) / Xianlin, China	Filtros PTFE em dois impactadores cascata de oito estágios (Andersen)	>9 µm, 5,8-9 µm, 4,7-5,8 µm, 3,3-4,7 µm, 2,1-3,3 µm, 1,1-2,1 µm, 0,7-1,1 µm, 0,4-0,7 µm e < 0,4 µm	água ultrapura e acetona		Sonicação em banho pré aquecido por 30 min. / suspensão da água foi liofilizada e suspensão da acetona, seca em câmara de N <sub>2</sub>
Pereira et al (2017) / São Paulo, Brasil	Filtros de quartzo coletado por amostrador de grande volume	MP <sub>10</sub> e MP <sub>2,5</sub>	substâncias carbonáceas:	fumos de ácido clorídrico	Aplicação direta
			HPAs e derivados:	solução de 18% acetoneitrila em diclorometano	Banho ultrassônico por 23 min., com dispositivo de extração miniaturizada
			Cl <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> :	água deionizada	Rotação delicada por 10 min.
			Elementos traço:	HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , HF	Digestão em três estágios em digestor micro-ondas (250 W por 5 min., 400 W por 5 min., 600 W por 2 min)
Du W. et al. (2018) / condado rural de Taigu, China	Filtro de fibra de vidro e cartucho de espuma de poliuretano de baixa densidade coletado por bomba e um impactador cascata Sioutas acoplada a um impactador de quatro estágios	< 0,25µm, 0,25-1,0µm, 1,0-2,5µm e > 2,5µm	Mistura de n-hexano/acetona (1:1/V/V)		Filtro de fibra de vidro: sistema de extração acelerado por micro-ondas, após 10 min, elevação da temperatura para 110°C por 10 min à 1200 W; cartucho de espuma: mesmo sistema, porém durante 8 h
Martinis et al. (2002) / São Paulo, Brasil	Filtro de fibra de vidro revestido com Teflon coletado por amostrador de grande volume com entrada de tamanho seletivo	MP <sub>10</sub>	Inicialmente com diclorometano e após com acetona		Aparador Soxhlet por 8 h e após por 8 h com o outro solvente

A escolha dos solventes também irá influenciar na eficiência de extração dos poluentes coletados. Roper et al. (2019) trazem, em seu estudo, um detalhamento de 6 metodologias de extração para MP<sub>2.5</sub> variando os tipos de solventes e compara a eficiência de recuperação de metais traço e HPAs, verificando que nenhuma das metodologias replicaram totalmente os componentes coletados no filtro, sendo a extração que utilizou água como solvente, a que foi capaz de recuperar as maiores concentrações totais dos metais Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn.

A grande quantidade de metodologias de extração se dá devido à ausência de uma que seja padronizada e referência para outros estudos. Dificuldades como recuperação dos poluentes, escolha do solvente que não gere conflito no material particulado coletado e nos testes de toxicidade em sementes, são alguns pontos que destacam a necessidade de mais estudos capazes de reproduzirem a realidade da poluição atmosférica, para que os seus efeitos possam ser estudados.

Muitos estudos analisam bioindicadores vegetais presentes em vizinhanças de locais onde há elevada poluição atmosférica, como beiras de estradas, próximo à incineradores de lixo ou regiões industriais. Efeitos decorrentes dessas exposições são observados, afetando no desenvolvimento e crescimento das espécies, na germinação e bioacumulação de metais como Cr, Cd, Pb, Cu e Ni. Porém quando se trata de estudos que abordem a extração de material particulado coletado para efeitos fitotoxicológicos como germinação e crescimento de raiz em sementes, a literatura ainda é muito escassa.

Alves et al. (2020) analisaram em seu estudo os efeitos da fração solúvel em água de amostras de MP<sub>2.5</sub> e MP<sub>2.5-10</sub> utilizando sementes de alface (*L. sativa*) como bioindicadores, determinando também as concentrações dos elementos metálicos Al, Ba, Cd, Pb, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni e Zn contidos nas amostras. Para a extração do material filtrado, utilizaram água como solvente e banho ultrassônico durante 8 h, com 12 h de descanso. Para o teste de toxicidade, conduziram ensaios de germinação e crescimento de raízes da *L. sativa* de acordo com a Norma U.S. EPA “Ecological Effects Test Guidelines” OPPTS 850.4200 – Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test (USEPA, 1996). Foi constatado haver uma interação positiva das concentrações de Ba na germinação das sementes e, negativas para Cd. No caso do alongamento de raízes, as concentrações de Zn foram positivas e, negativas para Cu (ALVES et al., 2020).

## CONCLUSÕES

A preocupação com os efeitos adversos causados pela poluição do ar vem se agravando, tornando-se global. A utilização de bioensaios com plantas para verificação da toxicidade da poluição atmosférica é uma opção viável. Para que seja possível avaliar os efeitos adversos através de ensaios toxicológicos em sementes utilizando o MP coletado, ainda são necessários mais estudos para determinar qual a melhor metodologia de extração para tais testes, vista grande dificuldade em recuperar todas as substâncias poluentes presentes nos filtros de forma a reconstruir a realidade do material coletado. Além disso, há necessidade em utilizar diferentes tipos de espécies vegetais nos estudos para verificar as suas particularidades quanto à sensibilidade aos poluentes.

## BIBLIOGRAFIA

- ALVES, D. D. et al. Source apportionment of metallic elements in urban atmospheric particulate matter and assessment of its water-soluble fraction toxicity. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 12202-12214, 2020.
- BRITO, P. H. F. et al. Composição química do material particulado atmosférico: uma revisão de literatura. **HOLOS**, ano 34, v. 3.
- COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB. Qualidade do ar - Poluentes.
- DU, W. et al. Winter air pollution by and inhalation exposure to nitrated and oxygenated PAHs in rural Shanxi, north China. **Atmospheric Environment**, v. 187, p. 210-217, 2018.
- MARTINIS, B. S. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in a bioassay-fractionated extract of PM<sub>10</sub> collected in São Paulo, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 307-314, 2002.
- PEREIRA, G. M. et al. Particulate pollutants in the Brazilian city of São Paulo: 1-year investigation for the chemical composition and source apportionment. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 17, p. 11943-11969, 2017.
- QUEIROZ P. G. M. et al. Composição elementar do material particulado presente no aerossol atmosférico do município de Sete Lagoas, Minas Gerais. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1233-1239, 2007.
- ROPER, C. et al. PM<sub>2.5</sub> Filter Extraction Methods: Implications for Chemical and Toxicological Analyses. **Environmental Science Technology**, v. 53, p. 434-442, 2019.
- SILVA, A. F.; VIEIRA, C. A. Aspectos da poluição atmosférica: uma reflexão sobre a qualidade do ar nas cidades brasileiras. **Ciência e Sustentabilidade**, v. 3, n. 1, p. 166-189, 2017.
- SOUZA, A. F. E. Caracterização de material particulado atmosférico na cidade de Limeira – SP. 2015. 103 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Limeira, SP. 2015.
- TANG, Z. et al. Cytotoxicity and toxicoproteomic analyses of human lung epithelial cells exposed to extracts of atmospheric particulate matters on PTFE filters using acetone and water. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 191, p. 110223, 2020.
- VALERIO, M.E. et al. Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L). **Science of the Total Environment**, v. 378, p. 63–66. 2007.
- VISIOLI, G. et al. Germination and root elongation bioassays in six different plant species for testing Ni contamination in soil. Bull. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 92, p. 490-496. 2014.
- United States Environmental Protection Agency - USEPA. Ecological Effects Test Guidelines. OPPTS 850.4200. Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test. EPA 712-q1000C-96-154. April 1996.