TOXICIDADE AGUDA DE CORANTES NATURAIS E EFLUENTES DE TINGIMENTO UTILIZANDO UM ORGANISMO MARINHO

Palavras-Chave: Mortalidade; Efluente Têxtil; *Cortinarius*; *Parhyale hawaiensis*

Autoras:

Karen Brandt, UNICAMP-FT

Fernanda de Barros Fogari, UNICAMP-FT

Dra. Amanda dos Santos (Coorientadora), LAEG-UNICAMP

Profa. Dra. Gisela de Aragão Umbuzeiro (Orientadora), UNICAMP-FT

INTRODUÇÃO

Compostos químicos emitidos ao ambiente aquático, através de processos industriais, podem apresentar potencial risco a biota aquática. No que se refere a indústria têxtil, destaca-se a utilização em larga escala de corantes sintéticos, que são compostos orgânicos com longo período de persistência no ambiente (BERRADI et. al., 2019). Além disso, são classificados como contaminantes emergentes, visto que não possuem regulamentação e monitoramento a respeito de seu potencial risco aos compartimentos ambientais (HORVAT, 2012).

O processo de tingimento têxtil gera grande volume de efluentes líquidos, contendo corantes e outras substâncias utilizadas no processo, gerando uma composição complexa que dificulta seu processo de degradação e tratamento (BOLDRIN, 2016). O lançamento destes efluentes em corpos hídricos provocam a bioacumulação de substâncias tóxicas em organismos de diferentes níveis tróficos, causando desequilíbrio nos ecossistemas aquáticos (BERRADI et. al., 2019).

O projeto BioColour é um consórcio multidisciplinar com pesquisadores das universidades da Finlândia, Estados Unidos e Brasil, cujo objetivo é o desenvolvimento de corantes e pigmentos de base biológica, como alternativas viáveis aos corantes sintéticos, a fim de promover a ecoeficiência do processo desde a produção até a aplicação dos corantes. O Laboratório de Ecotoxicologia e Genotoxicidade (LAEG) da Faculdade de Tecnologia da UNICAMP, coordenado pela Profa. Gisela Umbuzeiro, participa do projeto BioColour realizando a avaliação de mutagenicidade e a toxicidade aquática dos biocorantes.

A realização de análises toxicológicas é fundamental para a avaliação de impactos ambientais causados por contaminantes, com o objetivo de amenizar os impactos associados ao uso e liberação de substâncias químicas no meio ambiente. Os testes de toxicidade possibilitam a identificação de efeitos adversos causados por agentes químicos em organismos vivos, estes efeitos podem ser expressos em mortalidade, através do teste de toxicidade aguda (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

É importante que esses testes sejam realizados com organismos de diferentes níveis tróficos, representativos do ambiente (COSTA *et al.*, 2008). Parhyale hawaiensis é um anfipode marinho de distribuição circumtropical, que apresenta fácil cultivo em laboratório e alto potencial reprodutivo, destacando-se como um organismo-teste promissor em avaliações da toxicidade de diferentes compostos e amostras ambientais (ARTAL, 2018).

No presente trabalho foram realizados testes de toxicidade aguda utilizando o organismo-teste *Parhyale hawaiensis*, com quatro corantes naturais de origem fúngica da espécie *Cortinarius*, desenvolvidos pelo projeto BioColour, e com amostras de efluentes provenientes dos processos de tingimento com esses corantes.

Os fungos do gênero *Cortinarius* possuem metabólitos secundários ricos em antraquinonas estáveis para parâmetros como pH e temperatura. As antraquinonas são pigmentos naturais que podem ser aplicados diretamente ou como matéria prima modificada por processos químicos (RÄISÄNEN et al., 2001). Dentre as antraquinonas derivadas do gênero *Cortinarius*, estão os corantes naturais dermocybin, demorubin+5-cloro-dermorubin, e os corantes das espécies *Cortinarius sanguineus* e *Cortinarius semi-sanguineus.*

OBJETIVO

Avaliar a toxicidade aguda de quatro corantes naturais desenvolvidos pelo projeto BioColour (Dermocybin, Dermorubin+5-clorodermorubin, *Cortinarius sanguineus* e *Cortinarius semi-sanguineus*) e de efluentes de tingimento, utilizando o anfípode marinho *Parhyale hawaiensis*.

METODOLOGIA

Foram realizados testes de toxicidade com os corantes naturais de origem fúngica, dermocybin, dermorubin+5-clorodermorubin, *Cortinarius sanguineus* e *Cortinarius semi-sanguineus*. Para o preparo da solução estoque, os corantes foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO, $(CH_3)_2SO$, Sigma-Aldrich®, 99,5% pureza, CAS 67-68-5) até a solubilidade máxima.

As diluições dos corantes foram realizadas em água do mar reconstituída (salinidade 30) e concentração máxima de 0,01% de DMSO, conforme a OECD n. 23 (2019). Também foram realizados testes de toxicidade com os efluentes gerados nos processos de tingimento utilizando *Cortinarius sanguineus* em viscose + lã (CS-VL), *Cortinarius semi-sanguineus* em viscose + lã (CSS-VL) e em viscose (CSS-V). O pH e salinidade dos efluentes foram ajustados para as condições apropriadas para o organismo-teste, conforme descrito por Artal et al. (2017).

Os testes foram realizados com organismos cultivados no LAEG. As culturas de *P. hawaiensis* foram mantidas em temperatura de 24 ± 2 °C com fotoperíodo de 12 horas e as características físico-químicas da água foram de 6 ± 2 mg L^{-1} de oxigênio dissolvido, pH 8 ± 1 e salinidade 30 ± 2 (Red Sea Salt®).

Os testes de toxicidade foram realizados em microplacas de 96 poços, utilizando neonatos ≤ 7 dias de idade. Para cada concentração foram utilizados de 20 a 32 réplicas, sendo 200 µL de solução e um neonato por réplica. As placas foram envolvidas em filme PVC e mantidas em incubadora com temperatura e fotoperíodo controlados por 96 horas. Ao final do teste, com auxílio de um microscópio estereoscópico, foram observados e registrados o número de organismos mortos. Consideraram-se válidos os testes que não excederam 10% de mortalidade no controle (ARTAL et al., 2018). Quando a toxicidade foi observada, as concentrações letais de 50% (CL50) foram calculadas usando o método Trimmed Spearman–Karber (HAMILTON, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados de mortalidade dos testes de toxicidade aguda com *P. hawaiensis* com as amostras de corantes naturais e efluentes de tingimento podem ser observados nas Tabelas 1, 2 e 3, e os valores das concentrações letais de 50% (CL50) na Tabela 4.

Tabela 1 - Toxicidade aguda dos corantes Dermocybin (DC) e Dermorubin+5-clorodermorubin (DR) utilizando *Parhyale hawaiensis.*

Concentração (mg L^{-1})	**DC**	**DR**
	Mortalidade (%)	
Controle	6,2	6,2
Controle DMSO 0,01%	0	0
0,07	3,1	-
0,10	-	0
0,13	0	-
0,20	-	3,1
0,22	9,4	-
0,35	-	0
0,40	0	-
0,60	-	0
0,70	0	-
1,00	-	0

Tabela 2 - Toxicidade aguda dos corantes *Cortinarius sanguineus* (CS) e *Cortinarius semi-sanguineus* (CSS) utilizando *Parhyale hawaiensis.*

Concentração (mg L^{-1})	**CS**	**CSS**
	Mortalidade (%)	
Controle	0	0
Controle DMSO 0,01%	0	0
0,24	-	0
0,37	20	-
0,41	-	0
0,64	0	-
0,69	-	0
1,08	0	-
1,18	-	10
1,84	40	-
2,00	-	0
3,12	45	-

Tabela 3 - Toxicidade aguda dos efluentes provenientes dos processos de tingimento de viscose (V) e viscose + lã (VL) com os corantes *Cortinarius sanguineus* (CS) e *Cortinarius semi-sanguineus* (CSS), utilizando *Parhyale hawaiensis*.

Concentração	**CS-VL**	**CSS-VL**	**CSS-V**
(%)	**Mortalidade (%)**		
Controle	10	3	0
33	45	50	0
66	100	100	30
100	100	100	60

Tabela 4 - Valores de concentração letal de 50% (CL50) obtidos nos testes de toxicidade aguda com *Parhyale hawaiensis* para os corantes naturais e para os efluentes de tingimento.

Amostra	**CL50[a] (I.C.)[b]**
Efluente CSS (viscose)	87,1 % (67,8-111,8)
Efluente CSS (viscose + lã)	33,0 % (n.c.)[c]
Efluente CS (viscose + lã)	35,1 % (n.c.)[c]
Corante CSS	Não Tóxico
Corante CS	> 3,125 mg L^{-1}
Corante DC	Não Tóxico
Corante DR	Não Tóxico

[a] Concentração letal 50%; [b] Intervalo de confiança; [c] Não possível calcular.

Entre os corantes analisados, o único que apresentou toxicidade aguda foi o *Cortinariussanguineus* (CS), com CL50 > 3,125 mg L^{-1}. Os demais corantes analisados não apresentaram toxicidade aguda, obtendo-se dados de mortalidade inferiores a 10%. As amostras dos efluentes de tingimento com *Cortinarius sanguineus* e *Cortinarius semi-sanguineus* apresentaram toxicidade aguda, e comparando os dois tipos de tingimento, observou-se maior mortalidade no tingimento de viscose + lã (VL) (Tabela 3).

Os efluentes de tingimento possuem composição complexa, uma vez que, diferentes compostos são utilizados juntamente aos corantes durante o processo de tingimento, como por exemplo os mordentes, responsáveis pela fixação do corante no tecido (BOLDRIN, 2016).

Comparando os resultados de toxicidade dos corantes naturais e dos efluentes de tingimento, é possível que haja alguma influência de outros compostos utilizados conjuntamente aos corantes no processo de tingimento, no entanto esses dados ainda estão sendo analisados para entender melhor a toxicidade desses efluentes.

CONCLUSÃO

A substituição de corantes sintéticos por corantes naturais configura uma alternativa de desenvolvimento sustentável, que proporciona minimizar os impactos ao ambiente (NILSON et al., 2007). Embora os corantes naturais se apresentem como uma alternativa viável para redução de contaminantes nos corpos hídricos, os processos de tingimento ainda apresentam potencial perigo. Enfatizando assim, a importância da obtenção de dados de toxicidade para assegurar que o uso destes corantes não ofereça risco à biota aquática.

AGRADECIMENTOS

PIBIC, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001, ao auxílio à pesquisa FAPESP ToxBioColour – processo 20/04628-8 e ao projeto BioColour (https://biocolour.fi/en/about-the-project/).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARTAL, Mariana Coletty et al. Development of an acute toxicity test with the tropical marine amphipod Parhyale hawaiensis. **Ecotoxicology**, v. 27, n. 2, p. 103-108, 15 nov. 2017. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s10646-017-1875-3.

ARTAL, Mariana Coletty. **O anfípode marinho Parhyale hawaiensis como um modelo em ecotoxicologia**. 2018. 80 f. Tese (Doutorado) - Curso de Toxicologia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. doi:10.11606/T.9.2018.tde-11062018-111130.

BERRADI, Mohamed *et al*. Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. **Heliyon**, v. 5, n. 11, p. e02711-11, nov. 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02711.

BOLDRIN, M. V.; YAMANAKA, H. **Corantes: caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento**. [s. l.]: Cultura Acadêmica, 2016. ISBN 9788579837807. Disponível em: https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,uid&db=cat04198a&AN=unicamp.000985324&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site. Acesso em: 12 jul. 2022.

COSTA, Carla Regina *et al*. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, [S.L.], v. 31, n. 7, p. 1820-1830, 2008. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000700038.

Hamilton MA, Russo RC, Thurston RV. Trimmed Spearman-Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. **Environ Sci Technol** 1977; 11:714–9. https://doi.org/10.1021/es60130a004.

HORVAT, A.J.M. et al. Analysis, occurrence and fate of anthelmintics and their transformation products in the environment. **Trac Trends In Analytical Chemistry** v.31, p. 61-84, jan. 2012. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.023.

NILSON, L. et al. Cleaner Production: Technologies and Tools for Resource Efficient Production. **Environmental Management**, [s. l.], 2007. Disponível em: https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,uid&db=edsswe&AN=edsswe.oai.DiVA.org.uu.194099&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site. Acesso em: 12 jul. 2022.

OECD (2019), Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures, OECD Series on Testing and Assessment, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/0ed2f88e-en.

RÄISÄNEN, Riikka et al. Dermorubin and 5-Chlorodermorubin Natural Anthraquinone Carboxylic Acids as Dyes for Wool. Textile **Research Journa**l, v. 72, n. 11, p. 973-976, nov. 2002. SAGE Publications. http://dx.doi.org/10.1177/004051750207201107.

RÄISÄNEN, Riikka et al. Examining Safety of Biocolourants from Fungal and Plant Sources-Examples from Cortinarius and Tapinella, Salix and Tanacetum spp. and Dyed Woollen Fabrics. **Antibiotics**, [S.L.], v. 9, n. 5, p. 266, 20 maio 2020. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics9050266.

SISINNO, Cristina Lúcia Silveira; OLIVERIA-FILHO, Eduardo Cyrino. **Princípios de toxicologia ambiental: conceitos e** aplicações. Rio de Janeiro: Interciência Ltda., 2013. 216 p.