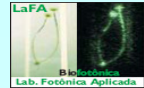




## BIOFOTÔNICA APLICADA A ENSAIOS ECOTOXICOLÓGICOS COM O USO DE *Escherichia coli* COMO BIOINDICADOR

Ana Karina de Castro; Carina M. G. Betarelli; Samuel Ricardo dos Santos e Cristiano de Mello Gallep  
 anaka.castro@yahoo.com.br; gallep@ft.unicamp.br



Laboratório de Fotônica Aplicada / DTT - FT; Universidade Estadual de Campinas,  
 r. Paschoal Marmo, 1888, 13484-370, Limeira, SP, Brasil

**Palavras-chave:** *Escherichia coli* - Ensaios ecotoxicológicos - Biofotônica.

### INTRODUÇÃO

A industrialização acarretou o aumento acentuado de vários metais pesados no meio ambiente, causando sérias ameaças ao ecossistema [1]. As altas concentrações de metais pesados no meio ambiente, principalmente no ambiente aquático são provocados pelos despejos domésticos e industriais. Um exemplo disso são os lançamentos de efluentes provenientes das indústrias de galvanoplastia. O uso de testes de toxicidade tem o intuito de avaliar o estado de saúde do ecossistema [2]. Ensaios ecotoxicológicos utilizando novas metodologias são cada vez mais estudados, com intuito de obter resultado em tempo reduzido, utilizando poucos equipamentos sem perder a sensibilidade e confiabilidade nos resultados do teste. Estudos realizados mostraram a toxicidade aguda de metais pesados e poluentes orgânicos avaliados por biosensores utilizando a *Escherichia coli*, as bactérias podem ser proveitosamente aplicadas para a detecção de toxicidade em águas e solo [3]. Do ponto de vista operacional, a união da microbiologia com a biofotônica, desponta como importante ferramenta aplicada ao monitoramento ambiental. O biofísico Fritz Albert Popp introduziu o termo "Biofótons" para expressar a origem e caráter quântico da fraca radiação contendo intensidade de poucos fótons/s.cm<sup>2</sup> emitida por organismos vivos abrangendo a região do espectro visível e próximo a este [4]. A emissão espontânea de luz tem sido observada em diversos tipos de organismos incluindo diversas espécies de bactérias. Utilizando alguns microrganismos para seus estudos, dentre eles a *Escherichia coli*, Tilbury comprovou que praticamente todos os microrganismos pesquisados emitem luz [5]. Através da detecção da emissão biofotônica, é possível se avaliar a sensibilidade de alguns organismos-teste quando expostos à ação tóxica de substâncias químicas, estimulando assim, o perigo dos contaminantes para os humanos e outros organismos.

### MATERIAIS E METODOS

Com a intenção de se obter uma melhor correlação entre os padrões de emissão espontânea de luz da bactéria *Escherichia coli* e os dados resultantes dos testes realizados com a presença do agente estressor, realizou-se experimentos para a análise das emissões espontânea de luz em câmara de fóton-contagem como ensaio controle. Os ensaios contaram com cepas previamente incubadas em meio MUG com crescimento prévio da cepa pelo período de 11 horas. Tomou-se uma alíquota de 0,5 mL da *Escherichia coli* e adicionou-se à 20 mL de meio nutritivo MUG. Após este procedimento, o teste foi conduzido para a câmara de fóton-contagem com controlador de temperatura a 37 °C, iniciando assim o ensaio biofotônico em câmara de fóton-contagem com duração de 24 horas.

#### Ensaios com o Efluente Galvânico

Após o crescimento prévio da *Escherichia coli*, retirou-se alíquota de 0,5 mL da cultura e adicionou-se à 20 mL de meio MUG previamente aquecido. Posteriormente, uma alíquota de 0,5 mL de solução estressora foi adicionada. Foram realizados com três repetições para cada concentração (100%, 50% e 10%) de agente estressor, com controlador de temperatura a 37 °C com tempo de integração de 10 segundos no período de 24 horas.

Nas séries 2 e 3 de ensaios com efluente galvânico utilizou-se o ácido clorídrico (HCl) e o Hidróxido de Sódio (NaOH) respectivamente, com a intenção de alterar o pH do efluente. Os resultados obtidos nos ensaios de fóton-contagem foram analisados com base nos seus perfis temporais de fóton-emissão e posteriormente analisados de acordo com parâmetros estatísticos empregando, soma, média e desvio padrão obtidos nas três repetições realizadas nos experimentos. Com o uso de software matemático Origin PRO 7.5

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 demonstra o resultado da primeira série de ensaios onde não alterou-se o pH do efluente, nota-se que a taxa de emissão de fótons de c1, c2 e c3 tiveram um comportamento semelhante decaiu rapidamente até igualar-se ao controle, mantendo-se constante até as 24 horas, demonstrando uma diminuição da atividade metabólica do organismo. Os testes desenvolvidos com o efluente tratado mostraram a maior taxa de fótons.

Através destas análises nota-se que a técnica biofotônica é eficiente para demonstrar as alterações no metabolismo das células bacterianas. A Figura 2 e 3 apresenta os resultados que alterou-se o pH do efluente podemos observar uma variação da taxa de emissão de fótons das concentrações usadas pode ter ocorrido pela variedade de substâncias químicas contida nos efluentes galvânicos, a *E. coli* quando exposta a este efluente age de forma inesperada. Para melhor compreensão dos ensaios foram analisados a soma, média e desvio padrão dos dados de fóton emissão, através da análise do gráfico gerado pode-se observar as variações que ocorreram nos experimentos. Analisou-se pela Figura 4 a variação dos efluentes galvânicos com alterações de pH. Nos testes realizados com pH 3,0 observou-se que o efluente galvânico não tratado (100%) e o efluente galvânico tratado tiveram taxa de fóton-emissão superiores ao controle, esse mesmo comportamento ocorreu com os ensaios realizados com pH8,0, nota-se ainda que o efluente com pH3,0 apresentou uma incidência total maior que o efluente com pH8. Os efluentes galvânicos causam interferência no metabolismo da *E. coli* ocasionando assim maior incidência de fótons.

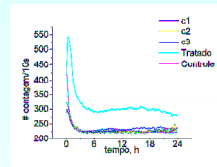


Figura 1: Série 1 ensaios sem alterar pH

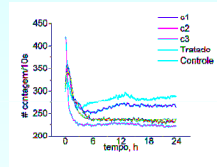


Figura 2: Série 2 ensaios com pH 3,0

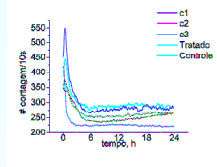


Figura 3: Série 3 ensaios com pH 8,0

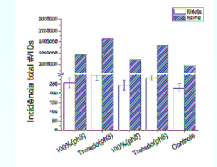


Figura 4: Gráfico representativo

### CONCLUSÃO

De acordo com o exposto no presente trabalho, conclui-se que os experimentos podem ser acompanhados em tempo real com a avaliação da sensibilidade da *E. coli* mediante à exposição ao efluente proveniente de indústria de galvanoplastia, principalmente quando aplicada em testes ecotoxicológicos para monitoramento e avaliação da qualidade da água em seus diversos usos. A câmara de foto-contagem apresentou capacidade de captar as emissões provenientes dos testes, o que demonstra versatilidade na sua aplicação. A emissão de luz está intrinsecamente relacionada com os padrões metabólicos dos organismos vivos. Ressalta-se ainda, que os resultados obtidos neste estudo são preliminares, havendo a necessidade de continuidade dessas pesquisas para melhores resultados e fixação de uma metodologia para este tipo de análise.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]- KUMAR M., Upreti K. R. Impact of Lead Stress and Adaptation in *Escherichia coli*. *Environmental Research: Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47, 246-252 nov 2000.
- [2]- AZEVEDO A. F., Ghaini M. A. A. *As bases toxicológicas da Ecotoxicologia*, pág 4- 5, 221-223, 2003.
- [3]- WANG, Hong et al. Toxicity assessment of heavy metals and organic compounds. *Chinese Chemical Letters*, Shanghai, v.19, p.211-214, 28 oct. 2007.
- [4]- POPP F. A. Biophoton - Background, experimental results, theoretical approach and applications. *Res. Adv. Photochem. & Photobiol.* v.1, p.31-41, 2000.
- [5]- TILBURY, R. N. The effect of stress factor on the spontaneous photon emission from microorganisms. *Experientia*, v. 48, p. 1030-1040, 1992.

### AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos à Fapesp, ao CNPq/ Unicamp pelo apoio financeiro. Ao LEAL, Laboratório Físico-químico, e Laboratório de Microbiologia da FT, pelo constante apoio prestado na execução dos experimentos.

