

AVALIAÇÃO DO EFEITO AGUDO, EM ORGANISMOS AQUÁTICOS, DO SURFACTANTE LINEAR ALQUILBENZENO SULFONADO (LAS) E REDUÇÃO DE TOXICIDADE APÓS TRATAMENTO COM RADIAÇÃO IONIZANTE (FEIXE DE ELÉTRONS)

DOI: <http://dx.doi.org/10.55449/congea.14.23.II-008>

Vanessa Silva Granadeiro Garcia (*), Lenita de Freitas Tallarico, Maria Clara Feitosa Guimarães, Eliana Nakano, Sueli Ivone Borrely

* Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN), vanessagranadeiro@gmail.com

RESUMO

Os surfactantes são exemplos de compostos críticos contidos em efluentes industriais e domésticos devido à sua persistência, elevado teor de matéria orgânica e de fósforo e por causar efeitos deletérios à biota aquática. Além disso, a espuma formada em corpos hídricos devido à presença de surfactantes altera parâmetros importantes da qualidade da água, reduzindo a capacidade de biodegradação e trocas gasosas, contribuindo para o florescimento de algas e influenciando a solubilidade de contaminantes orgânicos. Devido a sua complexidade, remover surfactantes de efluentes tem sido uma questão fundamental. Neste contexto, os Processos Oxidativos Avançados vêm sendo utilizados para melhorar a tratabilidade desse tipo de contaminante, complementando o tratamento biológico. A irradiação por feixe de elétrons vem sendo estudada como mais uma possibilidade tratamento de efluentes. Este estudo avaliou os efeitos agudos do surfactante aniônico – Linear Aquilbenzeno Sulfonado (LAS) antes e após o tratamento com feixe de elétrons. Nos ensaios ecotoxicológicos foram empregados: *Vibrio fischeri* (bactéria luminescente), *Daphnia similis* (cladocera) e *Biomphalaria glabrata* (molusco). O surfactante LAS foi submetido à irradiação em acelerador de elétrons, nas doses de 2,5 kGy e 5 kGy. Da exposição aguda ao LAS, *D. similis* foi o organismo mais sensível (CE50 = 9,52 mg/L ± 0,43), seguido por *B. glabrata* (CL50=19,17 mg/L) e de *V. fischeri* (CE50 = 29,54 mg/L ± 0,57). Os resultados de toxicidade obtidos após tratamento do surfactante LAS com feixe de elétrons foram promissores, com significativa eficiência na redução da toxicidade para os organismos *D. similis* e *V. fischeri*: acima de 45% - 2,5 kGy e 70% - 5kGy. A proposta da abordagem ecotoxicológica de surfactantes fornece informações relevantes sobre o comportamento destes poluentes perigosos em corpos hídricos frente à biota aquática, permitindo avaliar os impactos de surfactantes no ecossistema aquático. Assim, os dados de toxicidade são importante ferramenta de avaliação também sobre a eficácia do tratamento proposto e podem ser associados a planos de gestão e tratamento adequados desse grupo de contaminantes.

PALAVRAS-CHAVE: Ecotoxicologia, organismos aquáticos, radiação ionizante, surfactante LAS

INTRODUÇÃO

Remover os surfactantes de efluentes líquidos tem sido uma questão fundamental, pois, sendo os surfactantes o princípio ativo dos detergentes, eles encontram-se na grande maioria dos efluentes industriais, hospitalares, restaurantes e residências. Em corpos hídricos, mesmo em baixas concentrações, os surfactantes induzem efeitos deletérios em organismos aquáticos, como dano celular, efeitos bioquímicos e fisiológicos, alterações na reprodução e crescimento, entre outros (NUNES e TEIXEIRA, 2022). Além disso, a formação de espumas em corpos d'água causam a depreciação dos níveis de oxigênio dissolvido nas águas, reduzindo a capacidade de biodegradação de matéria orgânica, além de interferir na atividade fotossintética.

Em condições aeróbicas, o LAS é biodegradável, entretanto, em condições anaeróbicas torna-se persistente e de difícil degradação. Além disso, os surfactantes também podem influenciar na solubilidade de contaminantes orgânicos contidos nas águas. Tais fatos confirmam a complexidade da degradação dos surfactantes no meio ambiente (JOVANIC et al. 2010; BADMUS et al. 2021).

O surfactante LAS, um dos tensoativos aniônicos mais representativos no mercado, causa diversas alterações bioquímicas, fisiológicas e metabólicas em organismos da biota aquática, reduzindo também a resistência de diversas espécies ao estresse ambiental e alterando os processos de reprodução e crescimento (BADMUS et al. 2021). Mustapha e Bawa-Allah (2020) evidenciaram alterações na histopatologia das brânquias e redução significativa das atividades enzimáticas da função hepática em peixes, em resposta à exposição ao LAS, enquanto a hepatotoxicidade foi evidenciada em girinos de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*), bem como efeitos morfométricos, metabólicos e histopatológicos e alterações da homeostase (FRANCO-BELUSSI et al. 2021).

Com relação aos efeitos de toxicidade aguda do LAS em organismos aquáticos expostos, dados de CE50 (concentração de efeito) reportados na literatura confirmam a toxicidade deste composto para diversas espécies, com CE50 (mg/L) de

0,91 para anfípode *Hyallolella azteca*; 6,6 para peixe *Danio rerio* e 14,17 para crustáceo *Daphnia similis* (COELHO E ROCHA 2010; SOBRINO - FIGUEROA 2018).

Com base nessa informação, além do tratamento biológico, outras tecnologias vêm sendo estudadas a fim de obter melhor eficiência no processo/remoção de surfactantes em efluentes. Dentre essas tecnologias, o Processo Oxidativo Avançado (POA) por radiação ionizante, tem sido proposto como uma tecnologia para tratamento de efluentes visando à redução da toxicidade, melhoria na biodegradabilidade, redução da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e da DQO (Demanda Química de Oxigênio), Carbono Orgânico Total, entre outros parâmetros. Neste processo, o feixe de elétrons pode promover a decomposição de contaminantes orgânicos a partir da radiólise da água. Resultados promissores têm sido reportados, a exemplo, para efluentes têxteis, com corantes reativos, valores de eficiência de remoção de cor superiores a 95% e redução de efeitos tóxicos superior a 50% para organismos aquáticos (*Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*) na dose 5 kGy foram obtidos por Garcia et al. (2020). Muitos outros estudos confirmam o potencial da radiação ionizante para o tratamento de compostos orgânicos.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos agudos do surfactante aniônico, Linear Aquilbenzeno Sulfonado (LAS) empregando os organismos aquáticos *Vibrio fischeri* (bactéria), *Daphnia similis* (cladocera) e *Biomphalaria glabrata* (molusco). O surfactante LAS também foi submetido à irradiação em acelerador de elétrons, nas doses de 2,5 kGy e 5 kGy, a fim de analisar a eficiência na redução da toxicidade após o tratamento com feixe de elétrons.

METODOLOGIA

Ensaio ecotoxicológicos: os ensaios para a avaliação de efeito agudo foram desenvolvidos com os organismos aquáticos *Vibrio fischeri* (bactéria) e *Daphnia similis* (crustáceo) no Laboratório de Ensaio Biológicos e Ambientais (LEBA) do Centro de Tecnologia das Radiações (CETER/IPEN). O ensaio com *Biomphalaria glabrata* (molusco) foi realizado no Laboratório de Parasitologia-Malacologia do Instituto Butantan.

O surfactante Linear Aquilbenzeno Sulfonato/Dodecil Benzeno Sulfonado de Sódio - LAS foi adquirido na Sigma-Aldrich/Merk (Fórmula linear: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$; Número CAS: 25155-30-0). As soluções dos surfactantes, para os ensaios de toxicidade, foram preparadas em água destilada (*Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*) e em água mole reconstituída (*Biomphalaria glabrata*), com concentração inicial de 100 mg/L.

O ensaio de ecotoxicidade aguda com a bactéria marinha luminescente *Vibrio fischeri* foi realizado de acordo com a norma ABNT NBR 15411-2: 2021. O ensaio foi realizado com o sistema Microtox®, modelo M-500 da Microbics. A luminescência da bactéria foi analisada inicialmente (I_0) e após 15 minutos (I_{15}) de exposição à amostra de interesse e a toxicidade foi evidenciada pela perda de luminescência. Foi estabelecido um mínimo de quatro concentrações, sendo o controle positivo composto por fenol e o controle negativo, uma solução diluente (NaCl 2%). Todos os ensaios foram realizados em duplicata. As concentrações dos surfactantes foram estabelecidas após ensaios preliminares, variando entre 10 e 100 mg/L.

Os ensaios com *Daphnia similis* foram conduzidos seguindo a norma técnica ABNT: NBR 12713: 2022. Vinte neonatos (jovens com 6–24 h) foram expostos a cada concentração de amostra e a um controle negativo (água natural) por 48 h, em temperatura controlada ($20^\circ\text{C} \pm 2$), sem alimentação. O mínimo de cinco concentrações foi adotado além de um controle (somente água de cultivo). O efeito observado após o período de exposição foi a imobilidade. Todos os ensaios foram realizados em duplicata, totalizando 40 organismos expostos por concentração de amostra.

Espécimes adultos do gastrópode *Biomphalaria glabrata*, com diâmetro de 10 a 13mm, concha intacta e idade mínima de dois meses foram utilizados para os ensaios de ecotoxicidade aguda. Foram utilizadas cinco concentrações do surfactante e um controle negativo (água mole reconstituída), a exposição foi de 24 horas e análise durante sete dias e foram realizados três ensaios totalizando 15 caramujos por concentração. O efeito observado após a exposição foi a letalidade. Os ensaios foram realizados de acordo com Tallarico et al. (2016).

Os dados de toxicidade para os organismos *V. fischeri* e *D. similis* foram expressos pela CE50 e para *B. glabrata* pela CL50 (concentração necessária para observar um efeito ou letalidade a 50% dos organismos expostos). A CE50 e CL50 é um parâmetro inversamente proporcional, o que significa que quanto menores os valores de CE50 e CL50, maior a toxicidade do composto testado. Os cálculos de CE50 e CL50 foram aplicadas de acordo com os métodos padrão da ABNT, com valores de CE50 e CL50 obtidos pelo método Trimmed Spearman-Kärber para *D. similis* e *B. glabrata* (HAMILTON et al. 1977) e por regressão linear para *V. fischeri*, com base nas concentrações da amostra e valores gama (γ). O efeito gama foi calculado a partir da razão entre a luminescência perdida e a remanescente.

A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar a significância das diferenças entre os valores dos tratamentos dos controles e os valores experimentais. O Teste post hoc Dunnett foi realizado quando diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas.

Irradiação com feixe de elétrons: as amostras de surfactante foram irradiadas em acelerador de elétrons do Centro de Tecnologia das radiações (CETER/IPEN).

O acelerador de elétrons utilizado foi do modelo Dynamitron, com energia fixada em 1,4 MeV e potência de 37,5kW. As amostras foram acondicionadas em recipiente de vidro de borossilicato, com volume de 246 mL (garantindo espessura de 4,0 mm de amostra para correta distribuição da energia) e esse recipiente foi protegido/coberto com filme plástico. Durante a irradiação, os recipientes com as amostras foram dispostos em bandeja móvel, em esteira automática com velocidade fixada em 6,72 m.min⁻¹, passando duas vezes pelo feixe de elétrons, recebendo metade da dose em cada passagem. As doses utilizadas compreenderam 2,5 e 5 kGy.

Eficiência da irradiação por feixe de elétrons para redução de toxicidade aguda: a eficiência da irradiação quanto à redução de toxicidade aguda para *D. similis* e *V. fischeri* foi obtida a partir dos valores de CE50, transformados para unidade de toxicidade (UT), seguindo com o cálculo (equação 1):

$$UT = 100/CE_{50}$$

$$RT(\%) = (UT_0 - UT_{\text{irrad}}/UT_0) \times 100 \quad (\text{equação 1})$$

Em que: UT₀=Unidades Tóxicas antes da irradiação; UT_{irrad}=Unidades Tóxicas após a irradiação.

RESULTADOS

Os valores de toxicidade aguda obtidos, bem como a eficiência do tratamento para o surfactante LAS com radiação foram compilados na Tabela 1.

Tabela 1. Toxicidade aguda: valores de CE(L)50 para *D. similis*, *V. fischeri* e *B. glabrata* das amostras de surfactante LAS brutas e irradiadas (2,5 kGy e 5 kGy) e eficiência do tratamento com feixe de elétrons.

	LAS - Bruto CE50 _(mg/L) (IC)*	LAS - 2,5 kGy CE50 _(%) (IC)*	LAS 5 kGy CE50 _(%) (IC)*
<i>Daphnia similis</i> CE50 _(48h)	9,21 (8,12 -11,30) 9,83 (8,72 - 11,09) 9,52 ± 0,43	17,62 (15,62 - 19,87) 16,68 (14,90 - 18,66) 17,15 ± 0,66 RT = 46,53%	35,50 (31,40 - 40,13) 27,89 (24,02 - 32,37) 31,69 ± 5,38 RT = 71,06%
<i>Vibrio fischeri</i> CE50 _(15min)	29,14 (13,73-47,34) 29,95 (19,90-45,07) 29,54 ± 0,57	573,53 (543,35-605,50) 525,86 (400,78-689,96) 549,69 ± 33,7 RT = 94,35%	Conc.:81,90% I0= 89 I15= 96 Conc.:81,90% I0= 92 I15= 105 Não Tóxico
<i>Biomphalaria glabrata</i> CL50 _(24h)	19,17 (12,51-29,36)	Não analisado	Não analisado

*IC: Intervalo de confiança entre parênteses (95%); RT= Redução da toxicidade

Da exposição aguda ao surfactante LAS (Tabela 1), *D. similis* foi o organismo mais sensível (CE50 = 9,52 mg/L ± 0,43), seguido por *B. glabrata* (CL50=19,17 mg/L) e de *V. fischeri* (CE50 = 29,54 mg/L ± 0,57).

Com relação ao tratamento por feixe de elétrons, houve redução da toxicidade de LAS após irradiação em ambas as doses aplicadas (2,5 kGy e 5 kGy) para todos os organismos expostos. Para *D. similis* foi verificada eficiência na redução da toxicidade de 46,53% (2,5 kGy) e 71,06% (5 kGy); já para a bactéria *V. fischeri*, da exposição à amostra irradiada com 2,5 kGy foi obtida redução de toxicidade aguda de 94,35%, enquanto com 5 kGy, o surfactante LAS não conferiu toxicidade para a bactéria, demonstrando a eficiência do tratamento na redução da toxicidade aguda de LAS para esse organismo nas condições estudadas.

Em relação à dose-resposta da exposição ao surfactante LAS bruto, para *D. similis*, nenhum efeito foi observado em comparação com o controle até 5 mg/L, enquanto 100% de imobilidade foi obtida a partir de 12,5 mg/L (p < 0,05 - teste de Dunnett). Para *V. fischeri*, a exposição a 20,47 mg/L de LAS resultou em mais de 35% de inibição da bioluminescência, enquanto 40,95 mg/L representou mais de 89% de inibição e 81,90 mg/L resultou em 98,8% de inibição da bioluminescência (p < 0,05). Com relação à exposição de 24 horas do surfactante LAS ao molusco *B. glabrata* foi evidenciado efeito a partir de 5,0 mg/L.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo, para a avaliação de efeitos agudos do surfactante LAS em organismos aquáticos, indicaram que este composto foi tóxico para as espécies expostas, demonstrando a importância deste tipo de avaliação e continuidade nas análises. Os ensaios ecotoxicológicos e a avaliação da tecnologia com radiação ionizante para o tratamento de surfactantes fornecem informações relevantes sobre poluentes que podem conferir efeitos nocivos à biota. Tais informações permitem adequação de tratamentos com possível redução de cargas tóxicas e podem ser associadas a planos de gestão a fim de minimizar o impacto de surfactantes em ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) **Ecotoxicologia aquática – Determinação do efeito inibitório de amostras de água sobre a emissão de luz de *Vibrio fischeri***. ABNT NBR 15411, Rio de Janeiro, 2021.
2. Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) **Ecotoxicologia aquática – Toxicidade Aguda- Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera)**. ABNT NBR 12713, Rio de Janeiro, 2022.
3. Badmus, S.O., Amusa, H.K., Oyehan, T.A., Saleh, T.A. **Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques**. Environ Sci and Pollution Res 28:62085-62104, 2021.
4. Coelho, K.S., Rocha, O. **Assessment of the potential toxicity of a linear alkylbenzene sulfonate (LAS) to freshwater animal life by means of cladoceran bioassays**. Ecotoxicology 19: 812-818, 2010.
5. Franco-Belussi, L., Jones-Costa, M., Salla, R.F., Souza, B.F.S., Pinto-Vidal, F.A., Oliveira, C.R., Silva-Zacarin, E.C.M., Abdalla, F.C., Duarte, I.C.S., Oliveira, C. **Hepatotoxicity of the anionic surfactant linear alkylbenzene sulphonate (LAS) in bullfrog tadpoles**. Chemosphere 266: 129014, 2021.
6. Garcia, V.S.G., Rosa, J.M., Borrelly, S.I. **Toxicity and color reduction of a textile effluent containing reactive red 239 dye by electron beam irradiation**. Radiat Phys Chem 172:108765, 2020.
7. Hamilton, M.A., Russo, R.C., Thurston, R.V. **Trimmed Spearman- Karber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays**. Environ Sci Technol 11(7):714-719, 1977.
8. Jovanic, B.R., Bojovi, C.S., Panic, B., Radenkovic, B., Despotovic, M. **The effect of detergent as polluting agent on the photosynthetic activity and chlorophyll content in bean leaves**. Health, 2: 395-399, 2010.
9. Mustapha, D.S., Bawa-Allah, K.A. **Differential toxicities of anionic and nonionic surfactants in fish**. Environ Sci and Pollution Res 27: 16754-16762, 2020.
10. Nunes, R.F., Teixeira, A.C.S.C. **An overview on surfactants as pollutants of concern: Occurrence, impacts and persulfate-based remediation Technologies**. Chemosphere 300: 134507, 2022.
11. Sobrino-Figueroa, A. **Toxic effect of commercial detergents on organisms from different trophic levels**. Environ Sci Pollut Res 25: 13283-13291, 2018.
12. Tallarico, L.F., Miyasato, P.A., Nakano, E. **Rearing and maintenance of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818): adults and embryos under laboratory conditions**. Ann Aquac Res 3:1013, 2016.