



SETAC – Brazil

## Avaliação das Atividades Tóxicas e Mutagênicas da Água e do Sedimento do Arroio Estância Velha, Região Coureira-calçadista, Utilizando *Allium cepa*

H. MITTEREGGER-JÚNIOR,<sup>1,6\*</sup> J. FERRAZ-DIAS,<sup>2</sup> M. LÚCIA-YONEMA,<sup>3</sup>  
A. ARENZON,<sup>4</sup> J. SILVA<sup>5</sup> & J. A. PEGAS- HENRIQUES<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup>Centro Tecnológico do Couro, Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial (SENAI), Estância Velha, RS

<sup>2</sup>Laboratório de Implantação Iônica, Instituto de Física da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

<sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Geologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, RS

<sup>4</sup>Ecotox – Laboratório de Ecotoxicologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),  
Centro de Ecologia, Porto Alegre, RS

<sup>5</sup>Laboratório de Genética Toxicológica, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS

<sup>6</sup>Centro de Biotecnologia, Departamento de Biofísica da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS

### RESUMO

Este trabalho é o resultado das análises da água e do sedimento provenientes de três diferentes pontos do arroio Estância Velha (RS), o qual recebe efluentes originados da indústria coureira-calçadista, desde a nascente até próximo à divisa do município. As coletas foram realizadas durante o inverno e o verão do ano de 2003, utilizando-se análises físico-químicas, microbiológicas e testes de toxicidade e genotoxicidade com *Allium cepa*. Os resultados obtidos revelaram a correlação significativa entre a baixa qualidade do arroio após a nascente e o lançamento de compostos originários de efluentes industriais e de esgoto.

*Palavras-chave:* *Allium cepa*, toxicidade, mutagenicidade, monitoramento ambiental, couro.

### ABSTRACT

#### Evaluation of toxic and genotoxic water and sediment activities in Estância Velha stream – leather and footwear industry region – using *Allium cepa*

This study is the results of analyses of water and sediment from three different points in Estância Velha stream (RS), which receives effluents from the leather and footwear industry, between the source and the municipal boundary. The samplings were performed during winter and summer 2003 using physicochemical and microbiological analyses and toxicity and mutagenicity tests with *Allium cepa*. The results obtained showed a significant correlation between low quality in the stream below the source and the discharge of compounds from industrial effluents and sewage.

*Key words:* *Allium cepa*, toxicity, genotoxicity, environmental monitoring, leather.

### INTRODUÇÃO

O Arroio Estância Velha tem origem no município de mesmo nome, correspondendo a um trecho de 8 km e recebendo diretamente em suas águas o efluente de indústrias pertencentes ao setor coureiro (indústrias químicas, curtumes e beneficiamento de couros) e calçadista.

O setor coureiro é considerado por especialistas como um dos dez ramos industriais que mais prejuízos causam ao meio ambiente, sendo responsável por grande consumo de recursos hídricos e por gerar substâncias que deterioram o mesmo.

Apesar da geração de material graxo, detergentes e outras substâncias dissolvidas, o cromo parece ser o contaminante

\*Corresponding author: Horst Mitteregger Júnior, e-mail: hjunior.couro@senairs.org.br.

mais prejudicial, possuindo características tóxicas e causando no meio ambiente a mortalidade de seres vivos, desde peixes até microrganismos. A forma hexavalente do cromo é dez vezes mais tóxica que a trivalente, tendo efeito de toxicidade crônica associado a certos tipos de câncer.

Estudos comparativos entre os efeitos do cromo trivalente (III) e hexavalente (VI) têm demonstrado que o cromo III apresenta baixa toxicidade, enquanto o cromo VI é um oxidante forte: embora não cause danos diretos no tecido, é considerado um agente mutagênico, carcinogênico e teratogênico. O cromo VI é um composto de fácil penetração na membrana celular em forma de ânion cromato, o que não ocorre com o cromo III, o qual é inerte e tem sua penetração dificultada (Dartsch *et al.*, 1998). O cromo VI no meio intracelular forma, pela ação do sistema redox-ativo (por exemplo, glutatona), espécies reativas ao oxigênio (ERO), provocando um desequilíbrio no estado redox celular, conhecido como estresse oxidativo, o qual leva a lesões no DNA.

A utilização de *A. cepa* tem sido descrita na avaliação do potencial citotóxico de efluentes industriais, como os originários de curtumes, determinando-se a diminuição do índice mitótico e a formação de aberrações cromossômicas. O teste é fácil de ser realizado, sendo utilizado rotineiramente em todo o mundo em laboratórios que trabalham com testes de genética toxicológica, considerado uma ferramenta valiosa quanto à determinação da contaminação ambiental, havendo extenso banco de dados de substâncias químicas já testadas (Fiskesjö, 1993).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Amostragem*

Foram coletadas amostras da água e do sedimento durante as estações do verão e inverno do ano de 2003 em três diferentes pontos, identificados como: “Nascente”, localizada na nascente do arroio, na região nordeste do município; “B. Rosas”, próximo ao centro da cidade, distante 4 km da nascente, situada no Bairro das Rosas; e “Final”, localizado no final do arroio, próximo ao limite do município. Todos os pontos analisados recebem esgoto doméstico e, após a Nascente, efluentes industriais provenientes das indústrias coureira, calçadista e química da região.

As amostras de água foram coletadas no centro de cada um dos pontos, sendo acondicionadas em recipientes próprios para cada análise físico-química e um volume de aproximadamente sete litros para os testes com *A. cepa*. A amostragem do sedimento foi realizada nos mesmos locais, sendo coletado volume aproximado de 2 kg por ponto e acondicionado em sacos plásticos. A preservação e a amostragem seguiram a norma ABNT NBR 9898, “Preservação e Técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores”.

### *Análises físicas, químicas e microbiológicas*

Para o planejamento das determinações físico-químicas e microbiológicas da água foi utilizada a norma ABNT NBR 9897, “Planejamento de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores”, relativos à indústria coureira, sendo determinados os índices de oxigênio dissolvido (OD), óleos e graxas, demanda bioquímica de oxigênio (DBO), demanda química de oxigênio, fenóis (DQO), bactérias termotolerantes, cromo total, temperatura, pH, nitrogênio total e sólidos totais.

Em razão da característica do ambiente foi determinada a concentração de cromo no sedimento pela técnica PIXE (Johansson *et al.*, 1995), que consiste na irradiação de amostras com feixes de íons. Esses experimentos foram realizados no Laboratório de Implantação Iônica do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para a realização desse procedimento as amostras de sedimento foram primeiramente secas à temperatura de 80°C e, após, maceradas de maneira a possibilitar a montagem de pastilhas utilizadas na análise.

### *Análises de toxicidade e mutagenicidade*

Os testes com *A. cepa* foram montados sem diluição, tendo como controle positivo o sulfato de cobre para a água, em conjunto com a vermiculita, empregada como controle positivo para a análise do sedimento. Para ambas as amostras (sedimento e água) foi utilizada água proveniente de fonte natural, como controle negativo, e esta associada à vermiculita como padrão para o sedimento.

De acordo com o método sugerido por Fiskesjö (1993), foram removidos os bulbos de cebolas saudáveis e que não tiveram contato com defensivos químicos, sendo a seguir secos e colocados em séries de dez (10), por ponto analisado, em frascos contendo a solução-teste, os quais foram renovados diariamente e mantidos à temperatura de 20°C. No segundo dia, foram coletadas raízes de tamanho máximo de 2 mm para análise cromossômica, sendo o material fixado em Carnoy por no mínimo três horas e depois fixado em álcool 70% em refrigeração. Após a fixação, foram realizados os preparos histológicos, utilizando o corante de Feulgen para a coloração dos meristemas e a seguir procedendo-se ao “squash” com ácido acético e posterior fixação e coloração com Fast-Green.

A análise mutagênica constou da determinação do índice mitótico (IM), anomalias no ciclo mitótico e a presença de micronúcleos em 3000 células. O IM foi definido como o número de mitoses em 1000 células contadas, sendo analisada a presença de metáfases, anáfases e telófases. A avaliação da toxicidade foi realizada pela medição do comprimento das raízes médias. Para este procedimento, após a coleta das raízes, os bulbos foram mantidos nas soluções em presença de luz à temperatura de 20°C por 4-5 dias, sendo determinado o RC 50% (efeito em 50% no crescimento das raízes em comparação ao controle normal).

Os resultados obtidos nos testes com *A. cepa* foram analisados empregando-se o cálculo da média do comprimento das raízes e o desvio-padrão para cada um dos pontos, sendo considerados a taxa de crescimento das raízes, o índice mitótico e a presença de micronúcleos. A correlação de significância entre as diferentes amostras foi determinada pela análise de variância (ANOVA) teste de Tukey's, programa Graphpad Prism versão 3.0.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos apresentados nas Tabelas 1 e 2 mostram menor índice de crescimento das raízes de *A. cepa* (IC) nos pontos localizados a partir da Nascente do arroio tanto no inverno quanto no verão, obtendo-se resultados significativos na água e no sedimento do B. Rosas e Final do arroio, este apenas no inverno. Com exceção das amostras de água coletadas na Nascente e no B. Rosas durante o inverno, todas as demais apresentaram significância em relação ao controle negativo.

As determinações físicas e químicas apresentadas na Tabela 3 indicam que, em relação à Nascente, observa-se na água aumento dos valores de DBO, DQO, óleos e graxas,

coliformes fecais e nitrogênio total, tanto no verão quanto no inverno. Estes resultados revelam grande contaminação resultante do despejo de matéria orgânica, provavelmente originada do processamento da pele e também associada a despejos de origem doméstica.

A análise das amostras de sedimento revelam que, em relação à Nascente, ocorreu aumento dos índices de cromo, tanto no inverno como no verão, destacando-se as altas concentrações encontradas nas amostras coletadas no Final do arroio (Tabela 4).

Avaliando-se o crescimento das raízes das amostras de água e sedimento em relação ao controle negativo (%RC), percebe-se maior toxicidade no verão e inverno após a Nascente (Tabelas 1 e 2), o qual também foi evidenciado na determinação do índice mitótico (IM) encontrado no Final do arroio nas amostras de sedimento.

A mutação cromossômica, determinada pela presença de micronúcleos, não revelou resultados significativos nas amostras de água e sedimento coletadas nas duas estações analisadas, entretanto, pode-se perceber aumento no número de micronúcleos na amostra coletada no B. Rosas durante o inverno e Final do arroio no verão (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 — Resultados obtidos com *Allium cepa* na água.

Pontos de coleta	Verão				Inverno			
	IM	MC	IC	RC	IM	MC	IC	RC
Nascente	1,84 ± 0,4	1,7 ± 0,5	1,43 ± 0,4 <sup>a</sup>	47	1,81 ± 0,6	0,7 ± 1,0	2,6 ± 1,0	87
B. Rosas	1,34 ± 0,8	2,2 ± 1,0	0,2 ± 0,1 <sup>a,d</sup>	7	1,73 ± 0,4	2,3 ± 2,6	1,33 ± 0,5 <sup>d</sup>	45
Final	2,0 ± 0,7 <sup>c</sup>	1,7 ± 1,0	1,15 ± 0,4 <sup>a</sup>	38	1,5 ± 0,7	0,4 ± 1,0	0,57 ± 0,2 <sup>a,d</sup>	19
C- Água	1,5 ± 0,3	0	3,04 ± 0,3	100	1,3 ± 0,6	0,0	2,98 ± 1,0	100
C+ Água	0,87 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,6 ± 1,0	0,71 ± 0,5 <sup>a</sup>	23	0,37 ± 0,3	7,4 ± 3,5 <sup>a</sup>	1,64 ± 0,4 <sup>a</sup>	55

IM: índice mitótico; MC: micronúcleos; IC: índice crescimento (cm); RC: crescimento em relação à média (%); <sup>a</sup>p < 0,001 em relação ao C-; <sup>b</sup>p < 0,01 em relação ao C-; <sup>c</sup>p < 0,05 em relação ao C-; <sup>d</sup>p < 0,001 em relação ao P1.

Tabela 2 — Resultados obtidos com *Allium cepa* no sedimento.

Pontos de coleta	Verão				Inverno			
	IM	MC	IC	% RC	IM	MC	IC	% RC
Nascente	1 ± 0,4	0,3 ± 0,5	0,96 ± 0,3 <sup>a</sup>	29	1,43 ± 0,4	0,0	2,21 ± 0,7 <sup>a</sup>	63
B. Rosas	1,3 ± 0,7	1,6 ± 0,4	0,49 ± 0,4 <sup>a,d</sup>	15	1,14 ± 0,5	0,3 ± 0,1	1,15 ± 0,4 <sup>a,c</sup>	33
Final	2,3 ± 0,9 <sup>b,e</sup>	1,2 ± 1,0	0,52 ± 0,4 <sup>a</sup>	15	0,7 ± 0,5 <sup>d</sup>	0,4 ± 0,7	0,21 ± 0,1 <sup>a,c</sup>	6
C- Vermiculita	2,85 ± 1	0,00	3,36 ± 1,0	100	2,52 ± 1,0	0,0	3,52 ± 1,0	100
C+Vermiculita	1,25 ± 0,7	4,3 ± 1,5 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,8 <sup>a</sup>	62	1,2 ± 0,7	6,4 ± 2,8 <sup>a</sup>	1,16 ± 0,3 <sup>a</sup>	33

IM: índice mitótico; MC: micronúcleos; IC: índice crescimento (cm); RC: crescimento em relação à média (%); <sup>a</sup>p < 0,001 em relação ao C- sedimento; <sup>b</sup>p < 0,05 em relação ao C- sedimento; <sup>c</sup>p < 0,001 em relação ao P1; <sup>d</sup>p < 0,05 em relação ao P1; <sup>e</sup>p < 0,01 em relação ao P1.

## DISCUSSÃO

A comparação dos resultados obtidos em relação ao índice de crescimento das raízes (RC) de *A. cepa* e os resultados físico-químicos da água e no sedimento revelaram acentuada piora da qualidade do arroio à medida que este recebe contribuições provenientes de resíduos industriais e domésticos até a formação do arroio Portão, limite geográfico do município.

Estas análises indicam que na água há maior quantidade de cromo a partir da Nascente, comprovando o lançamento de efluentes provenientes das indústrias da região, no qual o cromo encontra-se acima do limite máximo de 0,5 mg/L permitido pela Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) quanto ao lançamento de efluentes líquidos em corpos de água. Ainda segundo o CONAMA 020/1986, de acordo com a Classe 3, os resultados apresentam-se fora dos limites permitidos para óleos e graxas (necessariamente ausentes), DBO<sub>5</sub> (até 10 mg/L) e bactérias termotolerantes (até  $4 \times 10^3$  NPMorg/100 ml).

Os baixos índices de crescimento das raízes evidenciam o efeito da toxicidade após a Nascente, tanto na água quanto no sedimento, como demonstrado pela correlação encontrada entre os diferentes pontos ( $p < 0,001$ ), destacando-se os resultados encontrados nas amostras de água do B. Rosas coletadas no verão e do Final, no inverno, os quais apresentaram os maiores índices de DQO, DBO, sólidos suspensos totais, nitrogênio total, óleos e graxas, cromo total e fenóis.

A presença de cromo no sedimento a partir da Nascente pode estar associada ao pH mais elevado da água nesses pontos, o qual na faixa de 8,0 a 8,5 forma hidróxido de cromo III (Cr(OH)<sub>3</sub>), sendo precipitado e acumulado no sistema (Class & Maia, 1994).

A análise da água apresentou diferenças entre as estações de verão e inverno, em que os piores índices foram identificados

no verão, possivelmente devido à menor vazão do arroio provocada pela estiagem, quando os arroios drenantes apresentam vazões de base, isto é, provenientes apenas da contribuição do lençol freático, coincidindo com o retorno das empresas à sua produção normal após o período de férias.

A inexistência de atividade mutagênica significativa na água e no sedimento em ambas as estações do ano também pode ser justificada pela ausência de mercúrio e cromo hexavalente na água, analisados no verão de 2004, portanto, sugere-se que o cromo presente na água está na forma de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (trivalente), destacando-se o sulfato monobásico de cromo lançado pelos curtumes após o tratamento.

Admite-se que o pH próximo a 7,0 determinado em todas as amostras de água pode ter diminuído a toxicidade do cromo III, devendo-se observar que em pH próximo ao neutro a toxidez da água é baixa, ocorrendo inibição da atividade biológica a partir de uma concentração de 500-1000 mg, a qual aumenta em função da acidez do meio. O cromo VI apresenta inibição da atividade biológica em um sistema aquático na faixa de 250-500 mg/L (Cabridenc, 1983).

É importante considerar que o processo de transformação de cromo hexavalente (sem características curtentes) até cromo trivalente (com características curtentes) é conduzido até a sua completa redução, e que o cromo trivalente, presente em resíduos e aparas de couros curtidos, não é oxidado a cromo hexavalente, mesmo quando exposto a condições naturais como ao sol e à chuva.

Além dos despejos industriais, caracterizados principalmente por carga orgânica, sólidos, óleos e graxas, cromo, sódio, sulfetos, sulfatos, cloretos, nitrogênio e outros metais, esse arroio recebe em suas águas cargas poluidoras provenientes de esgotos domésticos do município, sem tratamento, o qual tem sido relatado como fonte geradora de efeito tóxico e mutagênico ao ambiente (White & Rasmussen, 1997).

Tabela 3 — Resultados das análises físico-químicas da água.

Pontos de coleta	Nascente
<b>Análises/Estação</b>	
1 – DQO (mgO <sub>2</sub> /L)	8
2 – DBO <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	8
3 – pH	6,8
4 – Sól. susp. totais (mg/L)	5,74
5 – Nitrogênio total (mg/L)	1,98
6 – Óleos e graxas (mg/L)	2,76
7 – Cromo total (mg/L)	< 0,01
8 – Temperatura (°C)	20
9 – Fenóis (mg/L)	0,02
10 – OD (mg/L)	6
11 – B.T (NPMorg/100 ml) <sup>a</sup>	$2,4 \times 10^2$

<sup>a</sup>Bactérias termotolerantes.

Tabela 4 — Resultados da análise do sedimento.

Pontos de coleta Análises/Estação	Nascente	B. Rosas	Final	Nascente	B. Rosas	Final
	Verão			Inverno		
Cromo (ppm)	54 ± 20	ND*	396 ± 67	69 ± 24	621 ± 102	10102 ± 1313
pH	6,5	7,5	7,5	7	7,5	7

\*Não determinado.

*Agradecimentos* — Centro Tecnológico do Couro – SENAI, Prefeitura de Estância Velha, Departamento de Genética e Física – UFRGS, Centro de Ecologia – UFRGS, Genotox e Centro de Biotecnologia – UFRGS.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1987, *NBR 9897: Planejamento de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores*. Rio de Janeiro.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1987, *NBR 9898: Preservação e técnicas de amostragem de fluentes líquidos e corpos receptores*. Rio de Janeiro.
- CABRIDENC, R., 1983, Efluentes de curtumes: constatação e previsão de seu impacto sobre o meio ambiente e aspectos de regulamentação. *Tecnicouro*, 5: 20-28.
- CLASS, I. C. & MAIA, R. A., 1994, *Manual básico de resíduos de curtume*. SENAI/RS, Porto Alegre, 664p.
- CONAMA, 1988, Resolução n. 20 de 1986. In: Conselho Nacional do Meio Ambiente. *Resoluções do CONAMA*. 2. ed. SEMA, Brasília, DF, 98p.
- DARTSCH, P. C., KIMMEL, R. & SCHMAL, F. W., 1998, Nephrotoxic and hepatotoxic effect of a chromium (VI) compound in comparison to a basic chromium (III) tanning agent, *Word Leather. Liverpool*, 3: 66-70.
- FISKESJO, G., 1993, The *Allium* test – a potential standard for the assessment of environmental toxicity. In: J. W. Gorsuch (ed.), ASTM (American Society of testing Materials) special technical publication 1216. *Environ. Toxicol. Risk Assessment.*, pp. 331-345.
- JOHANSSON, S. A. E., CAMPBELL, J. L. & MALMQVIST, K. G., 1995, *Particle-Induced X-Ray Emission Spectrometry (PIXE)*. John Wiley & Sons, Inc.
- WHITE, P. A. & RASMUSSEN, J. B., 1998, The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutat. Res.*, 460: 223-236.