AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DOS MICROPLÁSTICOS (MPs) NA TOXICIDADE DE BENZO[A]PIRENO (BaP) NA ALGA CLOROFÍCEA *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA*

EVALUATION OF THE EFFECTS OF MICROPLASTICS (MPs) ON THE TOXICITY OF BENZO[A]PYRENE (BaP) IN THE GREEN ALGA *RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA*

Yuuri Gabriel de Souza Santos, Paloma Kachel Gusso-Choueri

Universidade Santa Cecília, Curso de Ciências Biológicas
E-mail para contato: ys205237@alunos.unisanta.br

RESUMO - Algas são a base da cadeia trófica no meio aquático. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos MPs na toxicidade de BaP em uma alga clorofícea. A alga foi exposta a três concentrações de MPs (5, 50 e 500mg/L), isoladamente e associadas ao CE50 de BaP na alga, por 72±2h, com luminosidade, temperatura e agitação controlados. As concentrações de 5 e 50mg/L MP inibiram o crescimento, provavelmente devido aos aditivos presentes nos plásticos. Associado a 50mg/L e 500mg/L MP, a toxicidade do BaP foi reduzida (atenuação dos efeitos pela adição de maiores concentrações de MP). As concentrações de 5mg/L MP+BaP e a EC50 do BaP foram mais tóxicos que o controle, devido à interação do HPA com os lipídios de membrana da alga.

Palavras-chave: *Produtores primários; água doce; crescimento algáceo; HPAs; partículas plásticas;*

ABSTRACT – Algae are the base of trofic chain in the aquatic enviroment. The objective of this study was to evaluate the effects of MPs on BaP toxicity in a chlorophyceous algae. The algae was exposed to three concentrations of MPs (5, 50 and 500mg/L), alone and associated with the EC50 of BaP in the algae, for 72±2h, with controled luminosity, temperature and agitation. 5 and 50mg/L MP concentrations inhibited growth, probably due to plastics additives. Associated with 50mg/L and 500mg/L MP, BaP toxicity was reduced (attenuation of effects by the addition of higher concentrations of MP. 500mg/L MP did not indicate toxicity. 5mg/L MP+BaP and BaP EC50 concentrations were more toxic than the control, due to the interaction of PAH with algal membrane lipids. Further studies are needed to elucidate these issues.

Keywords: *Primary producers; freshwater; algae growth; PAHs; plastic particles;*

Tipo do trabalho: (X) Iniciação científica ( ) Iniciação tecnológica ( ) Extensão

1 INTRODUÇÃO

Os microplásticos (MPs) são definidos como partículas plásticas de tamanho < 5mm de diâmetro [1]. São partículas facilmente carreadas pela água e suas propriedades físico-químicas favorecem a adsorção de compostos hidrofóbicos presentes na água em sua superfície, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) [2]. Os HPAs são substâncias compostas por dois ou mais anéis aromáticos [3], de natureza tóxica que podem causar uma série de danos aos organismos aquáticos, tais como mutagenicidade e carcinogenicidade [4]. O benzo[a]pireno é um agente genotóxico, bioacumulativo e teratogênico [5]. Embora a contaminação por HPAs em ambientes marinhos já seja uma questão deveras estudada, ainda são escassos os estudos que consideram seu impacto em ambientes dulcícolas [2].

As algas são usadas em estudos toxicológicos e são organismos que possuem um papel fundamental nos ecossistemas aquáticos, visto que constituem a base da cadeia alimentar, sendo produtores primários e servindo como fonte de oxigênio para o metabolismo de espécies consumidoras [6]. A espécie de alga utilizada no presente estudo foi a *Raphidocelis subcapitata*, devido a características como um curto ciclo de vida e facilidade de cultivo em laboratório [6]. Sendo assim, o objetivo geral do trabalho foi avaliar o efeito de microplásticos sobre a toxicidade de BaP em uma alga clorofícea. Para tanto, a alga *Raphidocelis subcapitata* foi exposta a uma concentração de B[a]P capaz de inibir a biomassa algal em 50% (CE50) associada a três concentrações diferentes de microplásticos (5, 50 e 500mg/L). A hipótese que foi testada é a de que a presença do microplástico pode alterar as respostas ecotoxicológicas individuais do B[a]P na espécie de microalga.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia aplicada foi baseada na NBR 12648 [7]. Inicialmente determinou-se a concentração efetiva de BaP responsável por causar 50% de inibição (CE50) no crescimento de *R. subcapitata*. Posteriormente, as algas foram expostas ao CE50 de BaP de forma isolada e com a adição de três concentrações de MPs (5, 50 e 500 mg/L). Também foram realizados tratamentos contendo apenas meio de cultivo (controle), meio de cultivo + solvente acetona (controle solvente), e meio de cultivo + MPs nas três concentrações teste. Os ensaios tiveram

duração de 72±2h, com temperatura de 24°C±1°C, iluminação de 4.500 lux e agitação diária. Cada tratamento possuiu três réplicas com 100 mL de volume final. Ao final do ensaio retirou-se uma amostra de cada recipiente-teste para determinação da biomassa algácea via contagem celular na câmara de Neubauer. Após a contagem, foi calculada a inibição celular (%). As diferenças estatísticas foram testadas por meio de Modelo Linear General (GLMs), avaliando o efeito isolado de cada contaminante e possíveis interações entre eles.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados possuem variâncias homogêneas e os resíduos apresentaram distribuição normal. A concentração da CE50 de BaP foi de 0,021 mg/L (valor aproximado indicado na figura 1), relativamente alta quando comparada aos resultados para outras espécies de acordo com a literatura. Os tratamentos controle e controle solvente não apresentam diferenças estatisticamente significativas, de forma que as comparações foram realizadas considerando apenas a diferença em relação ao controle solvente.

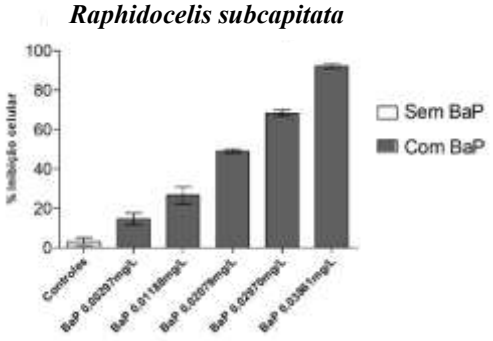


Figura 1. Efeitos de diferentes concentrações de BaP na taxa de inibição celular de *R. subcapitata*, demonstrando o valor aproximado do CE50.

Quando testados os efeitos isolados das MPs, observou-se uma inibição no crescimento nas concentrações de 5 e 50 mg/L em relação ao controle solvente. Os polímeros plásticos contêm diversos aditivos químicos que podem ser liberados pela lixiviação, o que explica essa toxicidade mesmo sendo o MP virgem [8]. Além disso, os GLMs mostraram que existe interação entre os efeitos dos dois contaminantes, sendo que na presença de MPs, nas concentrações de 50 e 500 mg/L, a toxicidade do BaP foi reduzida (figura 2). Isso indica que a exposição a concentrações mais altas de micropartículas plásticas atenuou os efeitos do HPA no organismo, provavelmente devido à adsorção do contaminante aos MPs, reduzindo sua biodisponibilidade no meio aquoso [9]. Porém, apesar da redução na toxicidade ser verificada

nesse caso, isso reforça a hipótese de que esses polímeros plásticos podem servir como vetores para compostos químicos, pois além de liberar aditivos, os MPs puderam absorver o BaP presente no meio ambiente devido à sua natureza hidrofóbica.

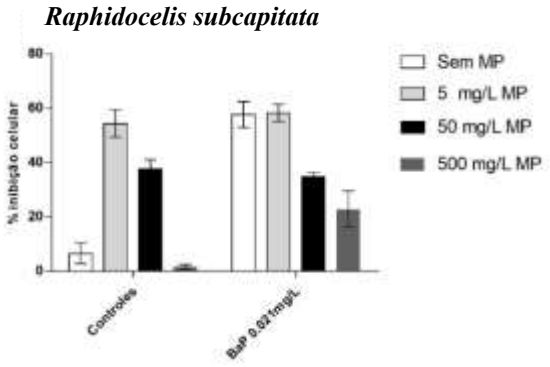


Figura 2. Inibição celular (%) em *R. subcapitata* em relação aos diferentes tratamentos submetidos.

A ausência de toxicidade observada em 500 mg/L MPs isoladamente, pode ser pelo fato que as microalgas podem utilizar essas partículas como substrato para colonização através da produção de um biofilme, que mantém as células adsorvidas na superfície do polímero e favorece o crescimento celular [10][11]. Os GLMs também indicaram que os tratamentos contendo BaP isoladamente e BaP com adição de 5 mg/L de MPs são mais tóxicos que o controle acetona. Essa inibição celular pode estar relacionada à interação do BaP com os lipídios de membrana da alga, pois os HPAs, por serem compostos lipofílicos, possuem alta afinidade com a membrana celular e, assim, podem exercer efeitos citotóxicos no organismo [12]. No caso do tratamento com microplásticos ainda assim ser tóxico, provavelmente a concentração de 5mg/L não adsorve suficiente BaP a ponto de abater sua toxicidade no meio.

4. CONCLUSÃO

Os MPs são capazes de alterar os efeitos toxicológicos individuais do BaP em *R. subcapitata*. Os resultados indicaram que as maiores concentrações de MPs associadas ao BaP (50 e 500 mg/L) reduziram a inibição algácea em comparação com BaP 0,021mg/L isoladamente, provavelmente devido a adsorção de BaP e consequente diminuição de sua biodisponibilidade. Os MPs virgens exerceram toxicidade nas algas até um certo limiar (até 50 mg/L) demonstrando que pode estar ocorrendo a lixiviação. As respostas do presente estudo reforçam a necessidade de novas pesquisas para elucidar as questões sobre o assunto, principalmente em ambientes e organismos de água doce.

5. REFERÊNCIAS

[1] Eriksen, M., Lebreton, L., Carson, H., Thiel, M., Moore, C., Borerro, J., . . . Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. PloS One.

[2] Alimba, C. G., & Faggio, C. (2019). Microplastics in the marine enviroment: Current trends in enviromental pollution and mechanisms of toxicological profile. Enviromental Toxicology and Pharmacology, 14.

[3] Zena, R., Speciale, A., Calabro, C., Caiò, M., Palombieri, D., Saija, A., & Cimino, F. (2015). Exposure of sea bream (Sparus aurata) to toxic concentrations of benzo[a]pyrene: possible human health effect. Ecotoxicology and Enviromental Safety, 10

[4] Martins, J., Wintruff, L. T., Westphal, G. G., Souza-Bastos, L., & Sadauskas, H. H. (2020). Interação entre Microplástico E Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) e os Efeitos desta sobre a Histopatologia Estomacal e Intestinal da Espécie Neotropical Astyanax lacustris. Anais do encontro nacional de Pós-graduação - IX ENPG, p. 5.

[5] García de Llasera, M.P., Olmos-Espejel, J.d.J., Díaz-Flores, G. et al. Biodegradation of benzo(a)pyrene by two freshwater microalgae Selenastrum capricornutum and Scenedesmus acutus: a comparative study useful for bioremediation. Environ Sci Pollut Res 23, 3365–3375 (2016).

[6] Machado, M.D., Soares, E.V. Life and death of Pseudokirchneriella subcapitata: physiological changes during chronological aging. Appl Microbiol Biotechnol 106, 8245–8258 (2022).

[7] ABNT. (2018). ABNT NBR 12348. Ecotoxicologia aquática - Toxicidade crônica - método de ensaio com algas (Chlorophyceae).

[8] Xavier Cousin, Annika Batel, Arno Bringer, Sebastian Hess, Marie-Laure Bégout, Thomas Braunbeck, Microplastics and sorbed contaminants – Trophic exposure in fish sensitive early life stages, Marine Environmental Research, Volume 161, 2020, 105126, ISSN0141-1136.

[9] Astrid Bartonitz, Ihuoma N. Anyanwu, Juergen Geist, Hannes K. Imhof, Julia Reichel, Johanna Graßmann, Joerg E. Drewes, Sebastian Beggel, Modulation of PAH toxicity on the freshwater organism G. roeseli by microparticles, Environmental Pollution, Volume 260, 2020, 113999, ISSN 0269-7491.

[10] Xianchuan Chen, Xiong Xiong, Xiaoming Jiang, Huahong Shi, Chenxi Wu, Sinking of floating plastic debris caused by biofilm development in a freshwater lake, Chemosphere, Volume 222, 2019, Pages 856-864, ISSN 0045-6535

[11] Patrick M. Canniff, Tham C. Hoang, Microplastic ingestion by Daphnia magna and its enhancement on algal growth, Science of The Total Environment, Volume 633, 2018, Pages 500-507, ISSN 0048-9697.

[12] Carvalho RN, Bopp SK, Lettieri T (2011) Transcriptomics Responses in Marine Diatom Thalassiosira pseudonana Exposed to the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Benzo[a]pyrene. PLoS ONE 6(11): e26985.