

ATIVIDADE DA ENZIMA δ -ALAD DE MINHOCAS *EISENIA FOETIDA* EXPOSTAS A CINZAS LEVES DA GASEIFICAÇÃO DO CARVÃO

22

Sandro Moreira Tuerlinckx^{1,*}, Ana Cláudia Kalil Huber², Ana Rosa Costa Muniz³

1*, 2 – Dr., Centro Universitário da Região da Campanha-URCAMP, sandrotuerlinckx@urcamp.edu.br

3 – Dra. Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

As cinzas leves de carvão são uma fonte de elementos tóxicos e são comumente dispostas de maneira inadequada sobre o solo, interferindo com a biota deste ecossistema. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a atividade da enzima δ -ALAD em minhocas expostas a concentrações crescentes de cinzas leves da gaseificação do carvão. Minhocas da espécie *Eisenia fetida* (n = 10) foram colocadas em solo artificial, na presença ou ausência de cinzas volantes (0-40%, peso/peso), durante 7, 14, e 28 dias. Ao final de cada período, foi analisada a atividade da enzima δ -ALAD nas minhocas. Os resultados obtidos demonstram que as concentrações de 20% e 40% de cinzas leves promovem redução da atividade enzimática.

Palavras-chave: biomarcador bioquímico; resíduo sólido; toxicidade.

INTRODUÇÃO

O processo de gaseificação do carvão produz um combustível gasoso com uma melhor eficiência de combustão e que é empregado como matéria-prima para síntese de produtos químicos (MELO, 2013). No entanto, a gaseificação do carvão também produz rejeitos, classificados como escória, cinzas de fundo e cinzas leves ou volantes (ROHDE et al., 2006).

Tem-se proposto o reaproveitamento das cinzas em atividades agrícolas, atuando como condicionantes do solo (AHMARUZZAMAN, 2010; RAM e MASTRO, 2014). Entretanto, as diferentes substâncias químicas que são encontradas no carvão, bem como em seus subprodutos e resíduos podem limitar seu uso agrícola porque podem levar à contaminação deste ecossistema (SHAHEEN et al., 2014; NAYAK et al., 2015).

As minhocas são os organismos mais representativos da comunidade de macroinvertebrados do solo e são amplamente utilizadas para examinar os efeitos biológicos de agentes químicos (BAIN, 2013).

Nesse sentido, esses organismos são úteis na investigação de respostas biológicas induzidas por pesticidas, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos policíclicos e metais pesados (ŁASZCZYCA et al, 2004).

Diversos estudos foram conduzidas testando a toxicidade de cinzas volantes de carvão, porém os resultados das pesquisas sobre os efeitos fisiológicos e bioquímicos em minhocas ainda são incipientes e parecem contraditórios (GRUMIAUX et al., 2010; De-MUYNCK et al., 2014).

A δ -ALAD também conhecida como porfobilinogênio-sintase é uma enzima essencial para todos os organismos aeróbios, pois participa na via de biossíntese de moléculas de tetrapirrólicas, que constituem os grupos prostéticos de proteínas fisiologicamente importantes, tais como a hemoglobina e citocromos (SASSA et al., 1989), além disso, desempenha um papel fundamental como um marcador de contaminação por metais e pode ser utilizada também para avaliar o comprometimento de processos metabólicos (ROCHA et al., 2012).

Tendo em vista que o processo de gaseificação do carvão gera resíduos sólidos com potencial impactante aos ecossistemas, faz-se necessário investigar os efeitos sobre organismos representativos do solo. Desta forma, o presente trabalho tem o objetivo de analisar a atividade da enzimas δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D) em minhocas *Eisenia foetida* expostas às cinzas volantes da gaseificação de carvão.

METODOLOGIA

As cinzas volantes foram obtidas a partir de um reator de gaseificação em leiteo fluidizado conforme Belgiorno et al. (2003), localizado no Pólo Carboquímico presente na Unipampa-Bagé/RS. Minhocas da espécie *Eisenia fetida* foram colocadas em solo artificial, na presença ou ausência de cinzas volantes (0-40%, peso/peso), durante 7, 14, e 28 dias. As minhocas foram homogeneizadas em TRIS-HCl pH 7,5 50 mmol L⁻¹ em duas partes (1:2 peso:volume), contendo fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF; 0,1 mmol L⁻¹) como inibidor de proteases, usando um homogeneizador de tecidos *Heidolph* a 6.000 rpm. Em seguida, o homogeneizado foi então centrifugado a 4000 rev min⁻¹ por 10 min a 4º C, resultando em um sobrenadante (S1) que foi utilizado para o ensaio bioquímico.

A atividade da enzima δ-ALA-D foi mesurada pelo método de Sassa (1982) pela medida da taxa de formação do produto porfobilinogênio (PBG), exceto que foi utilizado tampão fosfato de potássio 84 mmol L⁻¹, pH 6.4, e 2.4 mmol L⁻¹ do substrato ácido-aminolevulínico (ALA). Uma alíquota de 200 µL (contendo aproximadamente 10 mg de proteína) do sobrenadante foi utilizado para a atividade da enzima δ-ALAD e o período de incubação de 180 minutos a 39º C. O produto de reação foi medido à 555 nm por espectrofotometria (Femto 700S), utilizando-se o reagente de Ehrlich's modificado, com um coeficiente de absorvidade molar de 61,000 (mol L⁻¹) cm⁻¹ para o Ehrlich-PBG.

As médias foram comparadas por ANOVA de duas vias com concentração e duração dos tratamentos como variáveis independentes, seguidas pelo teste de Tukey. O nível de significância foi considerado p <0,05. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software IBM SPSS 20 e a os gráficos gerados pelo software SigmaPlot 12.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito das cinzas leves oriundas da gaseificação do carvão sobre a atividade da enzima δ -ALAD de minhocas *Eisenia foetida* são demonstradas na figura 1.

25

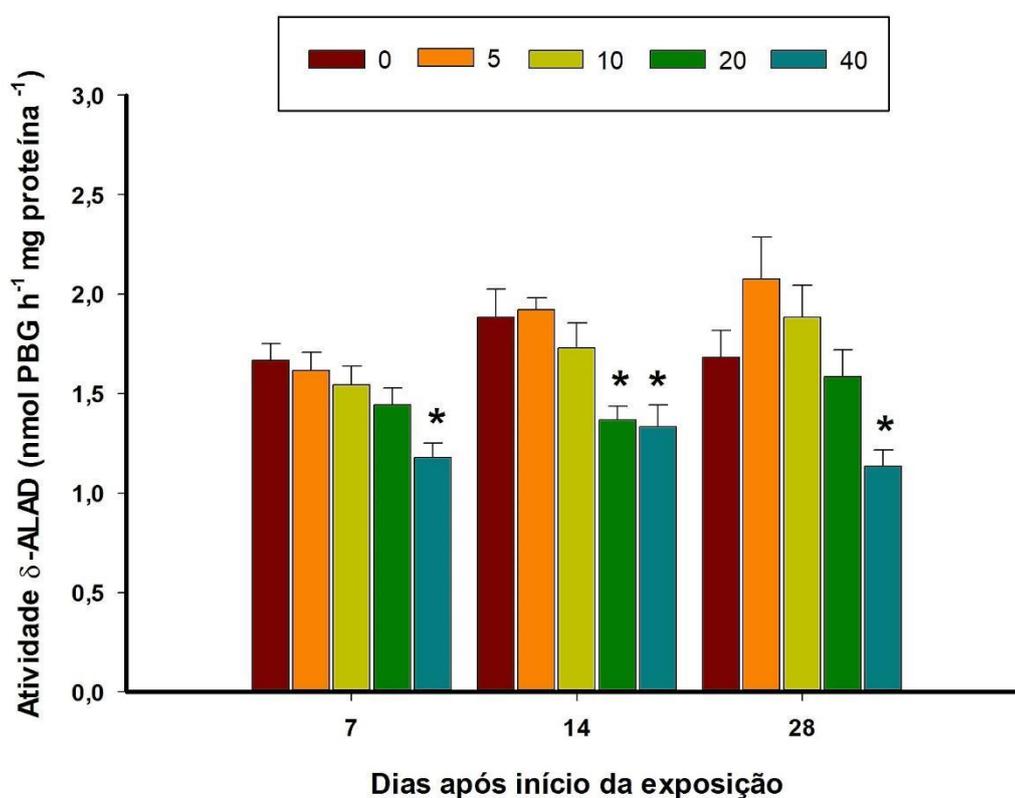


Figura 1. Atividade da enzima δ -ALAD de *Eisenia foetida* durante o período de exposição a concentrações crescentes de cinzas volantes da gaseificação do carvão em solo artificial. Barras representam média \pm erro padrão. *Asteriscos indicam diferença significativa ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle (sem adição de cinzas) pelo método de Tukey.

A atividade da δ -ALAD diminuiu significativamente após sete dias de exposição às cinzas volantes na concentração de 40%, enquanto nenhuma diferença significativa foi observada nas demais concentrações. Após 14 dias, o declínio na atividade da δ -ALAD foi observado em minhocas expostas a 20 e

40% de cinzas volantes, enquanto que nas demais concentrações não houve alteração significativa.

Entretanto ao 28º dia, uma redução significativa ($p < 0,05$) na atividade da δ -ALAD foi observada somente em minhocas expostas a concentração mais elevada (40%) de cinzas leves.

Os efeitos tóxicos das cinzas leves da gaseificação de carvão sobre a enzima δ -ALAD de minhocas *Eisenia foetida* podem estar associados a presença de metais pesados neste resíduo, visto que, esta enzima é afetada por diversos elementos químicos (ROCHA et al., 2012). Os resultados obtidos nesta pesquisa estão de acordo com os dados encontrados por Markad et al. (2012), que observaram efeitos prejudiciais, incluindo estresse oxidativo, desestabilização de membranas lisossomais e danos ao DNA em minhocas expostas à cinzas leves de carvão.

CONCLUSÃO

As cinzas leves oriundas da gaseificação de carvão promovem uma inibição da enzima δ -ALAD de minhocas *Eisenia foetida* expostas somente a concentrações mais elevadas durante o período experimental.

AGRADECIMENTOS (opcional)

Ao CNPq pela concessão de bolsa de IC para auxiliar o projeto.

REFERÊNCIAS

AHMARUZZAMAN, M. A review on the utilization of fly ash. **Prog. Energy Combust. Sci.** 36: 327–363, 2010.

BAIN, L.J. **Ecological Risk Assessment and Animal Models**. Chapter 9; E.A. Laws (ed.), *Environmental Toxicology: Selected Entries from the Encyclopedia of Sustainability Science*

and Technology, DOI 10.1007/978-1-4614-5764-0_9, Springer Science+Business Media New York; 2013 p. 181 – 201.

BELGIORNO, V. et al. Energy from gasification of solid wastes. **Waste Management**, n.23, p. 1-15, 2003.

DEMUYNCK, S., SUCCIU, I.R., GRUMIAUX, F., DOUAY, F., LEPRÊTRE, A. Effects of field metal-contaminated soils submitted to phytostabilisation and fly ash-aided phytostabilisation on the avoidance behaviour of *Eisenia fetida*. **Ecotoxicol. Environ.Saf.**107,170–177, 2014.

GRUMIAUX, F., DEMUYNCK, S., S CHIKORSKI, D., LEMIÈRE,S., LEPRÊTRE,A. Assessing the effects of FB Cash treatments of metal-contaminated soils using life history traits and metal bioaccumulation analysis of the earthworm *Eisenia andrei*. **Chemosphere** 79,156–161, 2010.

ŁASZCZYCA P, AUGUSTYNIAK M, BABCZYŃSKA A, BEDNARSKA K, KAFEL A, MIGULA P, WILCZEK G, WITAS I. Profiles of enzymatic activity in earthworms from zinc, lead and cadmium polluted areas near Olkusz (Poland). **Environ Int**, 30 (7):901–910, 2004.

MELO, James H. S. **Simulação da gaseificação do carvão mineral de Candiota**. Bagé: Universidade Federal do Pampa, 2013. 75 p.

NAYAK, A.K.; RAJA, R.; RAO, K.S.; SHUKLA, A.K.; MOHANTY S., SHAHID, R. et al. Effect of fly ash application on soil microbial response and heavy metal accumulation in soil and rice plant. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. 114: 257–262; 2015.

RAM, L.C.; MASTO, R.E. Fly ash for soil amelioration: A review on the influence of ash blending with inorganic and organic amendments. **Earth Science Reviews**, 128 (2014) 52-74. doi:10.1016/j.earscirev.2013.10.003

ROCHA, J. B. T.; SARAIVA, R. A.; GARCIA, S. C.; GRAVINA, F. S.; NOGUEIRA, C. W. Aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicol. Res.**, 2012, 1, 85

ROHDE, G.M.; ZWONOK, O.; CHIES, F.; SILVA, N.I.W. **Cinzas de Carvão Fossil no Brasil – Aspectos Técnicos e Ambientais**. Porto Alegre: CIENTEC, v.1; 202p; 2006.

SASSA S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. **Enzyme** 28:133– 45; 1982.

SHAHEEN, S.M.; HOODA O. S.; TSADILAS C. D. Opportunities and challenges in the use of coal fly ash for soil improvements A review. **Journal of Environmental Management** 145: 249-267; 2014.