

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**PAULO PAULINO RODRIGUES JUNIOR**

**DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE TOXICIDADE, EM DIFERENTES NÍVEIS  
TRÓFICOS, DE TENSOATIVOS FLUORADOS UTILIZADOS NO COMBATE A  
INCÊNDIOS**

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

**PAULO PAULINO RODRIGUES JUNIOR**

**DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE TOXICIDADE, EM DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS, DE TENSOATIVOS FLUORADOS UTILIZADOS NO COMBATE A INCÊNDIOS**

**Determination of toxicity limits, at different trophic levels, of fluorinated surfactants used in firefighting**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisangela Düsman

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Thalita Grando Rauen

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Irede Angela Lucini Dalmolin

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**PAULO PAULINO RODRIGUES JUNIOR**

**DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE TOXICIDADE, EM DIFERENTES NÍVEIS TRÓFICOS, DE TENSOATIVOS FLUORADOS UTILIZADOS NO COMBATE A INCÊNDIOS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Engenharia Química apresentado como requisito para obtenção do título de da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 07 de dezembro de 2021.

---

Elisângela Düsman  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Irede Angela Lucini Dalmolin  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Thalita Grando Rauen  
Doutorado  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

“A folha de aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”

**FRANCISCO BELTRÃO**

**2021**

Dedico este trabalho à minha família e a todos que auxiliaram para conclusão deste objetivo.

## **AGRADECIMENTOS**

Faltam palavras para descrever a satisfação de encerrar uma caminhada de anos na graduação, onde não faltaram pessoas que ajudaram para que este sonho se concretizasse. A todas estas pessoas meus sinceros agradecimentos, pois sem elas não poderia estar finalizando esta etapa.

Reconhecer o desconhecimento sobre certas  
coisas é sinal de inteligência e um passo  
decisivo para a mudança.  
(CORTELLA, 2009).

## RESUMO

Os líquidos geradores de espuma (LGE), contendo tensoativos perfluorados, podem atingir o meio ambiente de diversas formas, desde seu manuseio, armazenamento, uso na prevenção e combate a incêndios ou envolvendo incidentes com líquidos inflamáveis. Nesse contexto, é de suma importância a determinação da toxicidade do LGE. Assim, o objetivo do presente estudo foi determinar a toxicidade do LGE, nas concentrações utilizadas pelo Corpo de Bombeiros do Estado do Paraná (1,05 g L<sup>-1</sup>, 3,15 g L<sup>-1</sup> e A3: 6,30 g L<sup>-1</sup>), de acordo com o tipo de incêndio a ser combatido, frente a bioindicadores de diferentes níveis tróficos. Foram utilizados os testes de mortalidade e imobilidade de um microcrustáceo (*Artemia salina* L.); de germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*); de fuga com minhocas (*Eisenia fetida*); e o de citotoxicidade de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio) com cultura de células de mamíferos. Para o bioindicador *A. salina*, pode-se observar efeito tóxico da amostra A1 (na concentração de 100%), A2 (nas concentrações acima de 25%) e A3 (quase todas as concentrações), com evidente efeito dose-dependente dentro do grupo e entre os grupos avaliados. No teste com o bioindicador vegetal (alface) todas as amostras (A1, A2 e A3) afetaram o número de sementes germinadas, a velocidade e porcentagem de germinação e o comprimento das raízes, também com efeito dose-dependente. No teste de fuga com o bioindicador animal minhoca, as amostras A2 e A3 foram consideradas tóxicas devido a porcentagem de fuga ser 70% e 100%, respectivamente, novamente com efeito tóxico mais evidente na maior concentração de LGE (A3 = 6% de LGE). Já no teste com células renais de *Macaca mullata* nenhuma das amostras foi tóxica. Desta forma, se faz necessária a elaboração de métodos para uso seguro e consciente por profissionais da área, tendo em vista que esse líquido gerador de espuma foi tóxico para quase todos os bioindicadores e biomarcadores utilizados no presente, e pelo fato de serem despejados no ambiente, sem nenhum controle ou dimensionamento da quantidade.

**Palavras-chave:** ecotoxicologia; *Artemia Salina*; *Eisenia fetida*; *Lactuca sativa*; espuma.

## ABSTRACT

The foam generating liquids (LFG), containing fluorinated surfactants. They can affect the environment in different ways, from handling, storage, use in preventing and firefighting or involving incidents with flammable liquids. In this context, it is of paramount importance the study through an assessment of the toxicity of LFG. Thus, the aim of the present study was to determine the toxicity of LGE, in the concentrations used by the Fire Department of the State of Paraná (1,05 g L<sup>-1</sup>, 3,15 g L<sup>-1</sup> and 6,30 g L<sup>-1</sup>), according to the type of fire to be fought, the behavior in bioindicators of different trophic levels. Was analyzed being these the mortality and immobility assays of a microcrustacean (*Artemia salina* L.); a lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination assay; a escape of earthworms (*Eisenia fetida*) assay; and a cytotoxicity of MTT ((3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium) with cell culture assay. For the bioindicator *A. salina*, one can observe a toxic effect of sample A1 (at a concentration of 100%), A2 (at concentrations above 25%) and A3 (almost all concentrations), with an evident dose-dependent effect within the group and between the evaluated groups. In the test with plant bioindicator (lettuce) all samples (A1, A2 and A3) affected the number of germinated seeds, germination speed and percentage and root length, also with a dose-dependent effect. In the escape test with animal bioindicator earthworms samples A2 and A3 were considered toxic because the escape percentage was 70% and 100%, respectively, again with a more evident toxic effect at the highest concentration of LGE (A3 = 6% of LGE). Already in the in the test with monkey mullata kidney cells none of the samples were toxic.. As follows, it is necessary to develop safe and conscientious methods of use by the segment professionals, considering that this foam generating liquid was toxic to almost all bioindicators and biomarkers used at present, and because they are is dumped into the environment, without any control or dimensioning of the quantity.

**Keywords:** ecotoxicology; *Artemia Salina*; *Eisenia fetida*; *Lactuca sativa*; foam.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Tetraedro do fogo.....	14
Figura 2 – Classes de incêndio.....	16
Figura 3 - Equipamento proporcionador de espuma.....	18
Fotografia 1 - Proporcionador de LGE com engate STORZ de 2.½” e dosagem de 6% com vazão de 376 LPM.....	18
Fotografia 2 - Lançador de espuma com engate STORZ de 2.½” .....	19
Figura 4 - Sequência de formação de espuma com a formação de bolhas de ar em solução aquosa.....	20
Figura 5 - Estrutura do perfluorooctano sulfônico (PFOS).....	20
Figura 6 - Esquema do protocolo MTT.....	23
Fotografia 3 - Hidrante de coluna na sede do 10° GB.....	24
Fotografia 4 : Amostras no interior da BOD durante o período de tratame.....	26
Fotografia - 5 : Recipientes usados durante o experimeto.....	38
Gráfico 1 : Taxa de mortalidade pelo ensaio de toxicidade com <i>Artemia salina</i> das diferentes concentrações dos controles salino e doce e das amostras tratamento.....	32
Gráfico 2: Número médio de sementes germinadas nos quatro dias de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento.....	33
Gráfico 3: Porcentagem de sementes germinadas no quarto dia de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento.....	34
Gráfico 4: Velocidade de germinação no quarto dia de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento.....	34
Gráfico 5: Tamanho médio das raízes de alface (mm) nos quatro dias de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento.....	35
Gráfico 6: Distribuição dos organismos <i>E. fetida</i> nos solos controle e teste.....	36
Gráfico 7: Taxa de fuga dos organismos <i>E. fetida</i> no grupo controle positivo (CO+) e nos grupos tratados.....	37
Gráfico 8: Absorbância média de células normais LLC-MK2, tratadas por 24, 48 e 72 horas com as diferentes concentrações (1:10, 1:100 e 1:1000) das amostras.....	38

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diluição de amostras.....	25
Tabela 2 - Média de organismos mortos/imóveis em todas as amostras.....	30

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
2.1	Objetivo Geral.....	13
2.2	Objetivos Específicos .....	13
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>14</b>
3.1	Teoria do fogo .....	14
3.2	Classificações de incêndios e a utilização de espuma como agente extintor.	16
3.3	Gerador de espuma.....	17
3.4	PFOS e seus impactos.....	20
3.5	Bioindicadores e Biomarcadores .....	21
<b>4</b>	<b>PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS .....</b>	<b>24</b>
4.1	Preparo de amostras.....	24
4.2	Teste de mortalidade/imobilidade com <i>Artemia salina</i> L.....	25
4.3	Teste de germinação e crescimento inicial com <i>Lactuca sativa</i> L. ....	26
4.4	Teste de fuga com <i>Eisenia fetida</i> .....	27
4.5	Teste de citotoxicidade com cultura de células de mamíferos .....	28
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
5.1	Mortalidade/imobilidade com <i>Artemia salina</i> L. ....	30
5.2	Germinação e crescimento inicial com <i>Lactuca sativa</i> L. ....	32
5.3	Fuga com <i>Eisenia fetida</i> .....	35
5.4	Citotoxicidade com cultura de células de mamíferos .....	37
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em toda ocorrência de incêndio ambiental, urbano ou que envolva líquidos inflamáveis, a ideia central é controlar a situação e eliminar o risco de propagação do fogo, tentando-se sempre otimizar o uso do agente extintor, que geralmente será a água, por ter um custo menor e ser de fácil acesso.

Contudo, a água apresenta algumas limitações que deram origem ao desenvolvimento do Líquido Gerador de Espuma (LGE). Este consiste em um tensoativo fluorado, utilizado para auxiliar no combate ao incêndio com a diminuição da tensão superficial da água e a formação de espuma, formando uma barreira e agindo por abafamento (FIGUEREDO *et al.*, 1999), no intuito de inibir a propagação do fogo com maior eficácia.

No Brasil é comum a utilização de LGE com tensoativos fluorados pelo Corpo de Bombeiros e pelo setor industrial, pois este composto é utilizado em incêndios ambientais e urbanos, onde o incêndio seja predominantemente de materiais sólidos de queima lenta, classe A. A principal função é de diminuir a tensão superficial e aumentar a umectação do material, melhorando a eficiência da água para o resfriamento e, assim, diminuindo a quantidade de água a ser usada para o rescaldo.

Outras aplicações mais comuns deste composto são em incidentes envolvendo líquidos inflamáveis, incêndio classe B, onde é realizada a diluição com uma concentração maior do composto. Neste caso, são necessários equipamentos para adequada diluição e formação da espuma, que irá atuar formando um filme aquoso, evitando a liberação de vapores inflamáveis e combatendo as chamas, excluindo o oxigênio da superfície do líquido agindo por abafamento (FIGUEREDO *et al.*, 1999).

Em incêndios ambientais a finalidade do uso do LGE é de “aumentar” o rendimento da água, pois a utilização deste tensoativo como umectante tem uma diluição proporcionalmente menor em relação à quantidade necessária para a formação de espuma ABNT/NBR 12615 (BRASIL, 2020).

Entretanto, não existe um controle sobre o lançamento dos tensoativos no meio ambiente, sendo que eles são lançados sem qualquer tipo de dimensionamento da quantidade, seja durante o manuseio, armazenamento, uso na prevenção e combate a incêndios ou envolvendo incidentes com líquidos inflamáveis.

Desta forma, é difícil prever qualquer dano à fauna e flora, tornando impraticável detectar se este composto será absorvido pelo solo ou se poderão alcançar locais de captação de água para consumo de animais e seres humanos, possivelmente causando danos à saúde da população (DANIEL *et al.*, 2021). De acordo com Silva (2017), estes tensoativos podem ser altamente tóxicos, bioacumuladores e persistentes, porém, nenhum estudo até o momento avaliou os efeitos a diferentes organismos das concentrações comumente utilizadas de LGE pelo Corpo de Bombeiros.

Desse modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade do LGE utilizado pelo Corpo de Bombeiros do Estado do Paraná em diferentes concentrações e para organismos de diferentes níveis tróficos. Para tanto, utilizou-se o teste de mortalidade/imobilidade com *Artemia salina* L.; teste de crescimento e germinação com sementes de *Lactuca sativa* L. (alface); teste de fuga com minhocas (*Eisenia fetida*); e teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células de mamíferos, a fim de servir como embasamento para a utilização de forma segura e consciente deste tensoativo pelos profissionais da área, podendo servir de embasamento para determinar limites de uso e minimizar os danos causados pelo líquido gerador de espuma contendo PFOs em sua composição.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade do líquido gerador de espuma com tensoativos fluorados para diferentes bioindicadores e estipular limites para seu uso.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Produzir soluções contendo as concentrações de LGE comumente utilizadas pelo Corpo de Bombeiros do Estado do Paraná.
- Avaliar a toxicidade das amostras pelo teste de imobilidade/mortalidade com o bioindicador *Artemia salina* L.;
- Entender sobre a interferência das amostras no teste de crescimento e germinação inicial das sementes dos bioindicadores *Lactuca sativa* L.;
- Aferir o comportamento da *Eisenia fetida* frente a exposição às amostras produzidas;
- Determinar o potencial citotóxico das amostras frente às células de mamíferos *in vitro*, pelo ensaio do MTT;
- Estabelecer limites de uso de LGE de acordo com cada bioindicador.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Teoria do fogo

A teoria do fogo trata de uma reação química onde uma substância é aquecida liberando gases inflamáveis que, em contato com o ar, libera energia em forma de luz e calor – ABNT/NBR 13860 (BRASIL, 1997). A diferenciação entre fogo e um incêndio é que o fogo é uma ação controlada, em um laboratório, por exemplo, já o incêndio é o fogo fora de controle, sendo necessária a intervenção para que a reação volte ao controle (CHAGAS, 2013).

O Manual de Combate a Incêndio do Corpo de Bombeiros do Estado do Paraná (CBPR), de 2006, adota como forma a facilitar o entendimento, o tetraedro do fogo (Figura 1), onde são necessários quatro componentes para formação do fogo: calor, combustível, comburente e reação em cadeia, em que cada um tem seu papel na combustão, ambas interligadas e dependentes.

Figura 1 - Tetraedro do fogo



Fonte: Manual de Fundamentos PMESP (2006)

Neste sentido, o calor é a energia de ativação do processo de combustão, ou seja, quando é adicionada energia térmica, ocorre a movimentação ou vibração das moléculas e, conseqüentemente, a elevação da temperatura, que pode ser produzida por diversas fontes. Dentre elas:

- *Química*: processo exotérmico, quando ocorre oxidação de combustível resultando na produção de calor. A combustão espontânea é um exemplo de energia calorífica química;
- *Elétrica*: pode gerar grande quantidade de calor e elevadas temperaturas, causando a ignição. Ocorre por meio de corrente elétrica que passa por uma resistência, como no chuveiro elétrico, um arco voltaico gerado por uma descarga atmosférica. Ou em locais onde a diferença de potencial ultrapassa a resistência do ar, formando o arco ou eletricidade estática gerada pelo atrito de materiais;
- *Mecânica*: é gerada através da fricção e compressão de uma superfície contra a outra. É descrita na Lei Geral de Gases, utilizando o motor a diesel onde a câmara é comprimida até ocorrer à ignição do combustível;
- *Nuclear*: resultante de um processo para induzir a liberação de energia de átomos (ARAÚJO, 2006).

O combustível pode estar em qualquer estado físico, mas normalmente passa para o estado gasoso liberando vapores inflamáveis antes de iniciar a queima. Já o comburente é a substância que permite que o combustível seja consumido (RIBEIRO, 2014). Neste caso, normalmente o oxigênio está em 21% da atmosfera, e caso a porcentagem chegue a menos de 8%, a combustão é interrompida.

O último componente necessário para a formação do fogo é a reação em cadeia, a qual resulta do ciclo constante entre o calor, o comburente e o combustível. Nesse processo, se ocorrer a remoção de uma das arestas do tetraedro, irá resultar na extinção do processo de combustão, e conseqüentemente, inibir a propagação do fogo. Nesse sentido, Araújo (2006) destaca os métodos existentes utilizados nos combates a incêndios são:

- Resfriamento: trata-se da transferência de calor da reação, a fim de diminuir a temperatura e interromper o ciclo do fogo, como por exemplo: o uso da água;
- Remoção do combustível: retirada do material que está “alimentando” a combustão, este elemento pode ser líquido, sólido ou gasoso;
- Abafamento: interrupção da alimentação de um gás comburente, que ativa a reação, ou seja, além do oxigênio, abundante na atmosfera existem outros gases que podem fazer esta função como: hidrogênio, sódio, potássio, magnésio e outros.

Adotando como base os conceitos descritos no Manual de Combate a Incêndios CBPR, de 2006, em 2002 foram elaboradas divisões para os diferentes tipos de agentes extintores e cada um agindo de forma peculiar para interromper o



processo de combustão, classificadas pela NFPA (Associação Nacional de Proteção Contra Incêndios).

### 3.2 Classificações de incêndios e a utilização de espuma como agente extintor

Os incêndios são classificados em diferentes classes, conforme Figura 2, de acordo com a NFPA 10 (2013):

Classe A - Materiais sólidos de queima lenta;

Classe B - Líquidos inflamáveis, graxa e gases combustíveis;

Classe C - Materiais e equipamentos elétricos energizados;

Classe D - Materiais pirofóricos;

Classe K - Óleos e gorduras em cozinhas.

Figura 2 – Classes de incêndio



Fonte: Forbee Engenharia (2020)

Essas classes são imprescindíveis para prevenir e combater o fogo com segurança e eficiência. No mercado, existem diversos tipos de agentes extintores que abrangem diversas classes, dentre elas: água, gases inertes, pós químicos e líquido gerador de espuma. Este último irá atuar principalmente contra incêndios que envolvem líquidos inflamáveis, formando uma espuma mecânica que atua resfriando e também uma camada espessa sobre o líquido, agindo por abafamento, mas também pode ser aplicado em materiais sólidos com a função de umectação por se tratar de um tensoativo que diminui a tensão superficial da água, penetrando com facilidade no

material. Já as espumas foram criadas com a finalidade de contornar determinadas limitações que a água possui, dentre elas, a alta tensão superficial e a baixa viscosidade. Além disso, nos tanques, a utilização de um jato de água pode resultar no transbordo e conseqüentemente na propagação do incêndio (FIGUEREDO, 1999).

### 3.3 Gerador de espuma

Existem diversos modelos de geradores de espuma, sendo que o mais usual é o tubo Venturi, decorrente do menor custo de aquisição e por ser de fácil manuseio. Segundo Sobrinho (2019), este equipamento segue o princípio de Bernoulli (Equação 1).

$$P_1 + \rho \frac{v_1^2}{2} + \rho g h_1 = P_2 + \rho \frac{v_2^2}{2} + \rho g h_2 \quad (1)$$

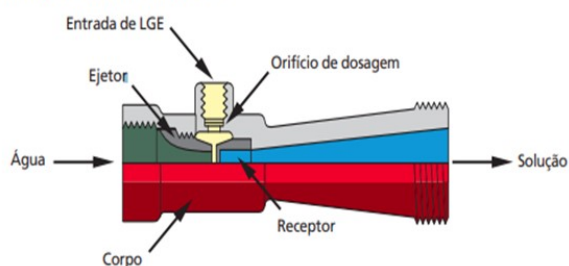
Em que, quanto ao fluido que escoar:

$P_i$  = pressão inicial (1) e final (2)  
 $\rho$  = densidade  
 $v_i$  = velocidade inicial (1) e final (2)  
 $h$  = altura inicial (1) e final (2)  
 $g$  – aceleração da gravidade

Bernoulli considerando um fluido incompressível, com a equação acima, afirmou que ao ocorrer o estrangulamento da tubulação, a velocidade tende a aumentar e para que ocorra a igualdade na equação a pressão deve diminuir, assim, pela diferença de pressão, o líquido gerador de espuma (LGE) é sugado por arrastamento através do orifício de dosagem, como pode-se verificar na Figura 3. Por isso a variação de velocidade está relacionada com a variação de pressão e com a energia potencial do fluido (BATCHELOR, 2000).

**Figura 3 - Equipamento proporcionalizador de espuma**

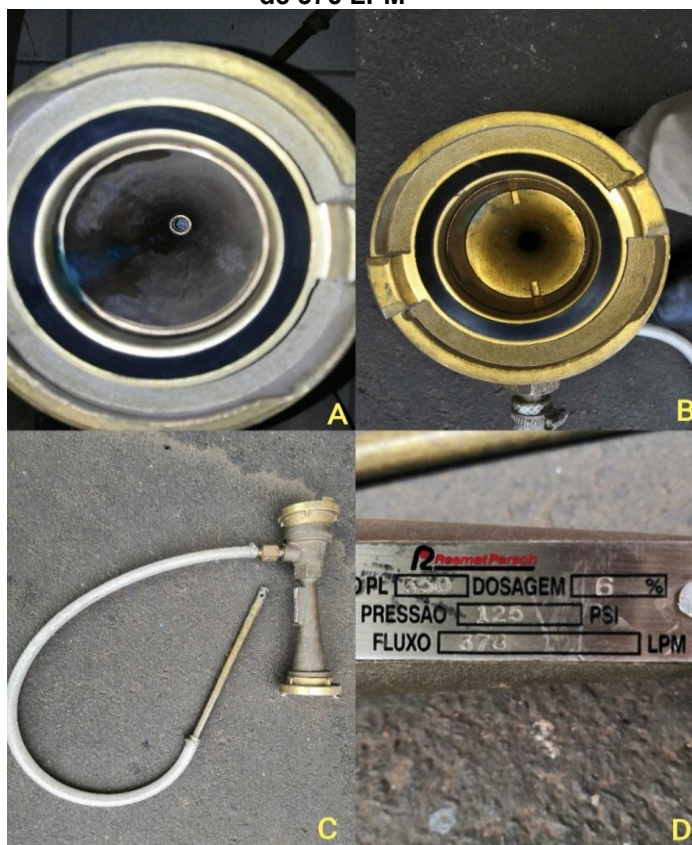
Detalhe de um proporcionalizador tipo PL



Fonte: Kidde Brasil Ltda (2021)

Na Fotografia 1, é possível verificar um proporcionalizador de LGE. A foto A mostra a saída da solução de água e líquido gerador de espuma. A foto B evidencia a entrada de água no equipamento. Na foto C é possível ver a lateral do equipamento de maneira geral, mostrando seu formato cônico e a mangueira onde irá ocorrer a sucção do produto. E por fim, a foto D trata-se da etiqueta de especificações, porcentagem de diluição, vazão ideal e pressão de trabalho.

**Fotografia 1 - Proporcionalizador de LGE com engate STORZ de 2.1/2" e dosagem de 6% com vazão de 376 LPM**

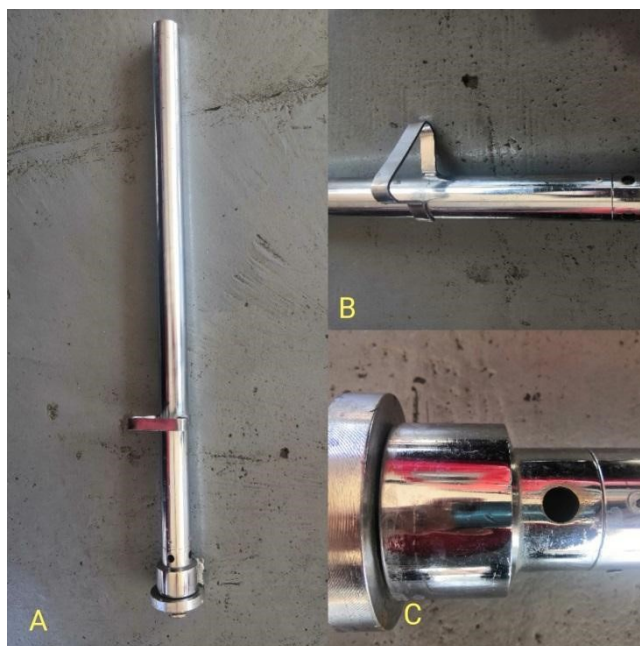


A: Saída do tubo, B: Entrada do tubo, C: Tubo Venturi vista lateral, D: Placa de especificações.

Fonte: Autoria própria (2021)

Após a realização da dosagem a mistura chega ao lançador de espuma Fotografia 2 - foto A, com uma maior pressão, onde é adicionado ar na mistura devido a um orifício de entrada (foto C), sendo que o operador irá segurá-la pela alça de sustentação (foto B). Ainda no interior do tubo existem grades onde irão ocorrer os choques mecânicos das moléculas estimulando a formação de bolhas para que na ponta do lançador saia a quantidade desejada de espuma.

**Fotografia 2 - Lançador de espuma com engate STORZ de 2.½”**



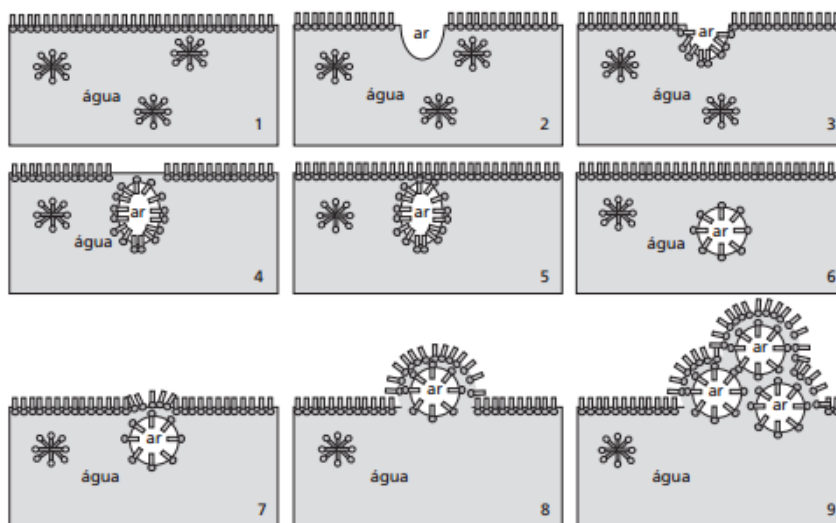
A: lançador de espuma vista lateral, B: alça de sustentação do lançador, C: orifício de entrada de ar para o tubo.

**Fonte : Autoria própria (2021)**

Segundo Daltin (2011), conceitualmente, a espuma é um agrupamento de bolhas, onde células gasosas estão envoltas de um filme líquido (o tensoativo). Por apresentar uma densidade mais baixa que a água, normalmente deverá permanecer na superfície, formando um filme aquoso, como demonstrado na Figura 4.

O rendimento da espuma irá variar com a sua composição e diluição conforme o fabricante. O líquido gerador de espuma mais comum utilizado por Corpos de Bombeiros em todo o Brasil é o que possui composto fluorado, o ácido perfluorooctano sulfônico (PFOS), a fim de aumentar a resistência térmica e a capacidade extintora de produtos que são diluídos em águas doce ou salgada ABNT/NBR 15511 (BRASIL, 2008).

**Figura 4 - Sequência de formação de espuma com a formação de bolhas de ar em solução aquosa**



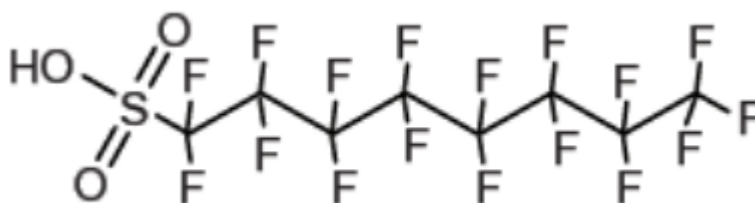
Fonte: Daltin (2011)

### 3.4 PFOS e seus impactos

O ácido perfluorooctano sulfônico (Figura 5) pertence à família dos tensoativos fluorados e, por ter uma forte ligação carbono-flúor é utilizado na forma de sal e incorporado a polímeros (SILVA, 2017). Presente na maioria dos líquidos geradores de espuma, este composto é adicionado a fim de aumentar a resistência térmica e a fluidez da espuma.

Segundo o Secretariado da Convenção de Estocolmo - Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, em uma reunião em 2010, o PFOS passou a fazer parte dos POPs (Poluentes Orgânicos Persistentes), por possuírem uma resistência à degradação ambiental por processos químicos, biológicos e fotolíticos.

**Figura 5 - Estrutura do perfluorooctano sulfônico (PFOS)**



Fonte: Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (2010)

De acordo com Poulsen *et al.* (2005), o PFOS apresenta propriedades de bioacumulação. Após pessoas estarem expostas, ele se apresenta em maior concentração no fígado e vesícula biliar, mas pode atingir outros órgãos, causando tumores. Em caso de gestantes, ele pode ultrapassar a barreira placentária e em lactantes pode estar presente também no leite materno. Ainda segundo o estudo de Lafuente *et al.* (2013), o perfluorooctano tem ligação direta com problemas cognitivos e patologias neurológicas como a doença de Parkinson.

Apesar das restrições e a recomendação de não fabricar o PFOS, ele ainda é produzido por alguns países de forma intencional, sendo utilizado em componentes eletrônicos, espumas e fluídos hidráulicos, e de forma não intencional, por exemplo, na degradação de substâncias químicas. Existem alternativas para a sua substituição, mas não são economicamente viáveis. No caso de espumas, existem no mercado, líquidos geradores de espumas sem a adição de flúor, porém, como ainda é permitido o uso do PFOS, as indústrias acabam não adquirindo, por não possuírem vantagens econômicas. E como não existe controle da quantidade a ser despejada no ambiente, permanecem livres para poluir, mesmo com os problemas já confirmados que são causados por esta substância (MONTAGNOLLI, 2015).

### **3.5 Bioindicadores e Biomarcadores**

Os bioindicadores e biomarcadores são importantes para indicar a toxicidade dos compostos específicos. O princípio dos testes é expor os organismos vivos de diversos níveis tróficos a diversas concentrações e avaliar seus efeitos, verificando alterações comportamentais, de redução no crescimento, na reprodução ou alterações químicas e fisiológicas nos organismos. A partir dos dados apresentados é possível identificar interações entre os organismos e os contaminantes e, assim, elaborar ações preventivas ou até remediadoras (ARIAS *et al.*, 2007). Assim, são ferramentas da ecotoxicologia que podem ser utilizadas como parâmetros para a criação e modificações de políticas ambientais, estando, de certa forma, relacionados ao controle, lançamento e produção de poluentes e incentivando uma fiscalização eficaz dos serviços ambientais (SILVA; POMPEO; PAIVA, 2015).

Existem diversos testes para detectar e quantificar a toxicidade em diferentes ambientes e para várias substâncias. Muitos já estão normatizados por entidades, e eles variam de acordo com o nível trófico investigado (RUBINGER, 2009).

### 3.5.1 Teste de mortalidade/imobilidade da *Artemia salina* L.

A *Artemia salina* é um microcrustáceo que vive em locais com água salgada ou salobra e apresenta alta tolerância a variações de salinidade, bem como baixos níveis de oxigênio. São muito utilizadas como bioindicadores para avaliar a toxicidade de substâncias devido sua fácil obtenção e manipulação, gerando muitas informações de forma rápida e simples, auxiliando assim, na avaliação de toxicidade geral. Além disso, este microcrustáceo é base alimentar de peixes (HIROTA *et al.*, 2012).

### 3.5.2 Teste de germinação e crescimento inicial com alface (*Lactuca sativa* L.)

Vegetais apresentam propriedades relacionadas às características do substrato no qual se desenvolvem, sendo que, de acordo com o crescimento, vão evidenciando possíveis alterações relacionadas aos compostos adicionados ao substrato. O teste de germinação e crescimento inicial com sementes de vegetais avalia qualitativamente a interferência do composto no desenvolvimento das plantas, em relação a sua germinação e crescimento radicular, comparando com as diferentes concentrações do produto no substrato do vegetal (PINTO, 2016).

Este teste possui diversas vantagens, devido ao seu fácil cultivo, custo relativamente baixo, possibilitando identificar o grau de toxicidade relacionado a germinação e medição radicular (GRYCZAK *et al.*, 2018).

### 3.5.3 Teste de fuga com *Eisenia fetida*

A minhoca *Eisenia fetida*, por possuir quimiorreceptores e tubérculos sensoriais, é sensível a qualquer substância tóxica no ambiente, fazendo com que elas evitem ambientes contaminados, buscando o solo mais apropriado (ANDREA, 2010).

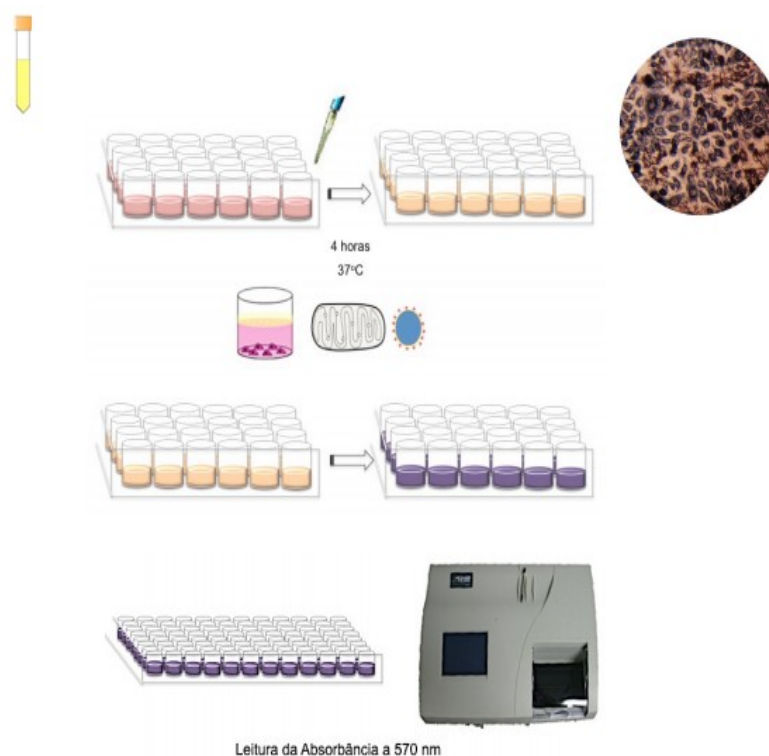
O teste de fuga busca avaliar o comportamento de fuga da *Eisenia fetida*, onde todos organismos do substrato teste podem fugir para o solo controle, caso o composto avaliado seja tóxico. Além de o teste ser rápido e de baixo custo, ele pode produzir dados consistentes para a pesquisa (HUND-RINKE, 2003).

### 3.5.4 Teste de citotoxicidade do MTT com cultura de células de mamíferos

Ensaio de citotoxicidade que mensuram a atividade mitocondrial podem ser utilizados para detectar danos precoces, pois os contaminantes de amostras aquosas podem conduzir a mortalidade das células ou induzir efeitos proliferativos, que podem indicar sequelas carcinogênicas na biota exposta à tais amostras (TRINTINAGLIA *et al.*, 2021).

Os testes utilizando cultura de células podem ser realizados baseando-se na capacidade da succinato desidrogenase (ativa em mitocôndrias de células vivas) converter este sal tetrazólio em cristais de formazan roxo, conforme o esquema apresentado (Figura 6). Esta conversão irá ocorrer no interior das células metabolicamente ativas, e a quantidade de cristais irá corresponder ao grau de viabilidade celular. Assim, quanto mais acentuada a coloração roxa dos poços, mais células viáveis estão contidas na amostra. Os cristais são solubilizados por um reagente e a placa é adicionada em um leitor de microplacas para aferir a absorbância e a realização da análise dos dados (DYKSTRA, 2013).

**Figura 6 - Esquema do protocolo MTT**



**Fonte: BASSO (2013)**



## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### 4.1 Preparo de amostras

Para o preparo das amostras foi utilizado para diluição a água tratada pela empresa de saneamento do Estado do Paraná (SANEPAR). Foi coletada no hidrante de coluna localizado na sede do 10º Grupamento de Bombeiros, na rua Prefeito Guiomar Lopes, nº700, no bairro Cristo Rei em Francisco Beltrão (Fotografia 3). A escolha do local deu-se por ser este o local onde os caminhões de combate a incêndio são abastecidos, deste modo, simulando o uso em uma ocorrência real.

Fotografia 3 - Hidrante de coluna na sede do 10º GB



Fonte: Autoria própria (2021)

A amostra do LGE SINTEX AFFF/ARC 3%X6% da marca Kidde Brasil LTDA, tipo 5 da norma ABNT/NBR 15511 (2008), foi adquirida a partir de uma doação do Corpo de Bombeiros do Estado do Paraná, sede de Francisco Beltrão do 10ºGB. Foram preparadas soluções de acordo com as diluições estabelecidas pelo fabricante, para cada tipo de uso: 1,05 g L<sup>-1</sup>(1%) para fins de umectação em incêndios de classe A (combustíveis sólidos) (A1), 3,15 g L<sup>-1</sup> (3%) para hidrocarbonetos e gasolina (A2), 6,30 g L<sup>-1</sup> (6%) para solventes polares e etanol (A3), ambas para a formação de espuma para o combate em incêndios de classe B (líquidos

inflamáveis). Uma amostra (A0) continha somente a água tratada pela SANEPAR. Na preparação foi adicionada em um béquer a água tratada juntamente com o composto, nas diluições informadas e agitado com um bastão de vidro até a formação de uma mistura homogênea.

**Tabela 1 – Diluição de amostras**

Amostras	Concentração de LGE (g L <sup>-1</sup> )	Finalidade
A0	0	
A1	1,05	Umectação
A2	3,15	Uso em hidrocarbonetos
A3	6,30	Uso em solventes polares

Fonte: Autoria própria (2021)

#### 4.2 Teste de mortalidade/imobilidade com *Artemia salina* L.

Foi realizado o teste de mortalidade e imobilidade com a *Artemia salina* L., para demonstrar possível toxicidade aguda, conduzida pelo método proposto por Veiga e Vital (2002), com modificações baseadas na ABNT/NBR 13373 (BRASIL, 2017).

O teste iniciou com a incubação de cistos de *A. salina* em uma solução de sal marinho sintético (35 g L<sup>-1</sup>), com aeração, luminosidade e a temperatura de aproximadamente 25° C.

Após a eclosão, 10 náuplios foram transferidos para poços de placas de 24 poços juntamente com 2mL das amostras, nas concentrações de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,2% e 3,1%, preparadas com diluição em uma solução salina. Foram realizadas quatro repetições de cada diluição. O controle negativo foi realizado com 2 mL de solução salina e outro com 2 mL de água filtrada. Após 24 horas foi realizada a contagem dos náuplios mortos, considerando aqueles que permaneceram imóveis por mais de 20 segundos conforme método proposto por Guerra (2001).

A estatística dos dados foi feita por análise de normalidade (Anderson-Darling, Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e Ryan-Joiner) e variância (Levene), pelo programa *Action Stat*. Como os resultados não apresentaram normalidade e nem homocedasticidade foi aplicado o teste de comparação de médias de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ;  $n=4$ ), pelo programa *Action Stat*.

### 4.3 Teste de germinação e crescimento inicial com *Lactuca sativa* L.

O teste de germinação e crescimento inicial *Lactuca sativa* L. (alface) foi realizado baseado na metodologia apresentada por Martins (2014).

As sementes, compradas em uma agropecuária no município de Francisco Beltrão, foram escolhidas aleatoriamente e colocadas em placas de Petri, forradas com papel filtro cortadas no formato da placa e umedecidas com 5 mL de cada amostra tratamento ou 5 mL de água destilada (controle negativo). Em cada placa foram distribuídas 25 sementes de alface, com quatro réplicas para cada grupo. As placas foram envoltas com um filme plástico e permaneceram em uma incubadora BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) no laboratório de microbiologia da UTFPR de Francisco Beltrão, a uma temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (Fotografia 4).

**Fotografia 4 - Amostras no interior da BOD durante o período de tratamento**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

Realizou-se a contagem e medição do número de sementes germinadas a cada 24 horas, durante 4 dias consecutivos, tendo como critério de germinação a emergência da radícula (3 mm de protrusão radicular).

Após a coleta dos dados foram realizados os cálculos do número de sementes germinadas por dia, do tamanho médio das raízes germinadas por dia, da porcentagem de germinação ( $PG = \frac{\text{número de sementes germinadas no total}}{25} \times 100$ ) e da velocidade de germinação ( $VG = \frac{\text{número de sementes germinadas no total}}{\text{números de dias de avaliação}}$ ), de acordo com Vieira Carvalho (1994).

A estatística dos dados foi feita por análise de normalidade (Anderson-Darling, Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk e Ryan-Joiner) e variância (Levene), pelo programa *Action Stat*. Como os resultados não apresentaram normalidade e nem homocedasticidade foi aplicado o teste de comparação de médias de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ;  $n=4$ ), pelo programa *Action Stat*.

#### **4.4 Teste de fuga com *Eisenia fetida***

O ensaio foi realizado seguindo a ABNT/NBR/ISO 17512-1 (BRASIL, 2011), em duplicata. As minhocas da espécie *E. fetida* utilizadas possuíam clitelo bem desenvolvido e massa corporal de 300 a 600 mg. Como solo foi utilizado o solo artificial tropical (SAT), constituído de areia fina seca e peneirada (70%), caulim em pó (20%) e fibra de coco (10%).

A umidade do solo foi ajustada para 60% da capacidade máxima de retenção com água filtrada para o grupo controle negativo, solução de ácido bórico (1 g  $H_3BO_3Kg^{-1}$  de solo) para o controle positivo e as diferentes soluções tratamentos de LGE para a avaliação de suas toxicidades.

Foram usados recipientes de polipropileno, envolto com papel alumínio para bloquear a passagem de luz e manter uma temperatura uniforme em seu interior. Criadas diversas aberturas na tampa do recipiente e depois divididas ao meio com uma película de plástico (Fotografia 5). Metade de sua capacidade foi preenchida com o SAT + controle negativo e a outra metade com SAT + controle positivo ou solução tratamento. Foi realizado um controle dual, onde ambas as partes foram preenchidas com SAT + controle negativo. Após a montagem, 10 minhocas (*E. fetida*) foram depositadas na linha divisória entre os dois solos, sendo removida a compartimentação do recipiente.

**Fotografia 5 - Recipientes montados e utilizados no experimento**



Fonte: Autoria própria (2021)

Os recipientes foram mantidos por 48 horas na ausência de luz e, passado esse período, o recipiente foi novamente compartimentado, e foi feita a contagem dos organismos em cada seção do recipiente. Os resultados foram expressos de acordo com os dados da porcentagem de fuga do substrato testado conforme a equação 2. E, para verificar a significância da resposta de fuga foi utilizado o teste estatístico de Fisher unicaudal, pelo programa *Action Stat*.

$$\% = [(nC - nT)/N] \times 100 \quad (2)$$

Onde: % = porcentagem de fuga

nC = número de minhocas encontradas na seção B (substrato controle)

nT = número de minhocas encontradas na seção A (substrato teste)

N = número total de minhocas (soma das replicatas por efluente)

#### **4.5 Teste de citotoxicidade com cultura de células de mamíferos**

As células renais de *Macaca mullata* (LLC-MK2), gentilmente cedidas pelo Prof. Dr. Wander Pavanelli da Universidade Estadual de Londrina, foram cultivadas em frascos de cultura de 25 cm<sup>2</sup> contendo 10 mL de meio de cultura DMEM (meio dulbecco mem) suplementado com 10% de SBF (soro bovino fetal) (Cultilab) e

incubadas em estufa incubadora CO<sub>2</sub> (5%) a 37 °C.

Para realizar o teste da citotoxicidade foi utilizado o ensaio com MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-il)-2,5-diphenil tetrazolium bromide], de acordo com o protocolo de Mosmann (1983). Foram utilizadas placas de cultivo de 96 poços onde, em cada poço, foram semeadas aproximadamente  $1 \times 10^5$  células, com exceção do poço de controle sem célula (branco). Após 24 horas, o meio de cultura de cada poço foi descartado e adicionado 100 µL de meio completo para os grupos: controle negativo (CO<sup>-</sup>) (meio de cultura), controle positivo (CO<sup>+</sup>) com o agente citotóxico metil metanosulfonato (MMS 500 µM) e as concentrações de 1:10, 1:100 e 1:1000 (v/v, amostra/meio) de cada solução tratamento (A0, A1, A2 e A3).

No momento do uso, as amostras foram filtradas utilizando microfiltros com um tamanho de poro de 0,22 µm, para máxima retenção de microrganismos que pudessem estar contidos nessas.

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas e, após esse tempo, o meio de cultura foi substituído por 100 µL de meio de cultura não suplementado, acrescido o reagente MTT (0,167 mg/mL). A placa foi incubada novamente por mais 4 horas, e na sequência, removido cuidadosamente o meio contendo MTT e aos poços foram adicionados 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) para a solubilização dos cristais de formazan. As leituras das absorbâncias foram realizadas em uma leitora de microplaca (Thermo Plate) a 560 nm.

Os resultados foram apresentados como média e desvio padrão das absorbâncias. Os valores das absorbâncias de cada repetição, de todas as concentrações e de todos os pontos de coleta, para cada tempo de avaliação (24, 48 e 72 horas) foram submetidos ao teste de normalidade e à análise de variância (*one way ANOVA*). Após, para cada tempo de avaliação foi realizado o teste de comparação de médias de Dunnet ( $\alpha = 0,05$ ), pelo programa *Action Stat*. As diferenças foram consideradas sendo estatisticamente significativas quando o valor de *p* foi menor que 0,05.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Mortalidade/imobilidade com *Artemia salina* L.

O resultado do teste de mortalidade/imobilidade com *Artemia salina* L. (Tabela 2) demonstra que a amostra de água da SANEPAR (A0) foi atóxica em todas as concentrações avaliadas (3,1% a 100%), comparado-a com os grupos de controle.

**Tabela 2 - Número médio e desvio padrão dos organismos *Artemia salina* mortos/imóveis do controle (CO<sup>-</sup>) salino, controle doce e das amostras tratamento**

Amostra	Concentração	Média + desvio padrão			
CO <sup>-</sup> Salino	3,10%	0	± 0	d	
	6,20%	0	± 0	d	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	0	± 0	d	
	50%	0	± 0	d	
	100%	0	± 0	d	
CO <sup>-</sup> Doce	3,10%	0	± 0	d	
	6,20%	0	± 0	d	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	0	± 0	d	
	50%	0	± 0	d	
	100%	0	± 0	d	
Amostra A0	3,10%	0	± 0	d	
	6,20%	0	± 0	d	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	0	± 0	d	
	50%	0	± 0	d	
	100%	0	± 0	d	
Amostra A1	3,10%	0	± 0	d	
	6,20%	0	± 0	d	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	0	± 0	d	
	50%	0	± 0	d	
	100%	2,5	± 4,3	b	
Amostra A2	3,10%	0	± 0	d	
	6,20%	0	± 0	d	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	0	± 0,5	c	
	50%	10	± 3,5	a	
	100%	10	± 0,5	a	
Amostra A3	3,10%	1	± 1,2	bc	
	6,20%	0	± 1,5	bc	
	12,50%	0	± 0	d	
	25%	10,5	± 0,6	a	
	50%	10	± 0,5	a	
	100%	10,5	± 0,6	a	

Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%.

A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

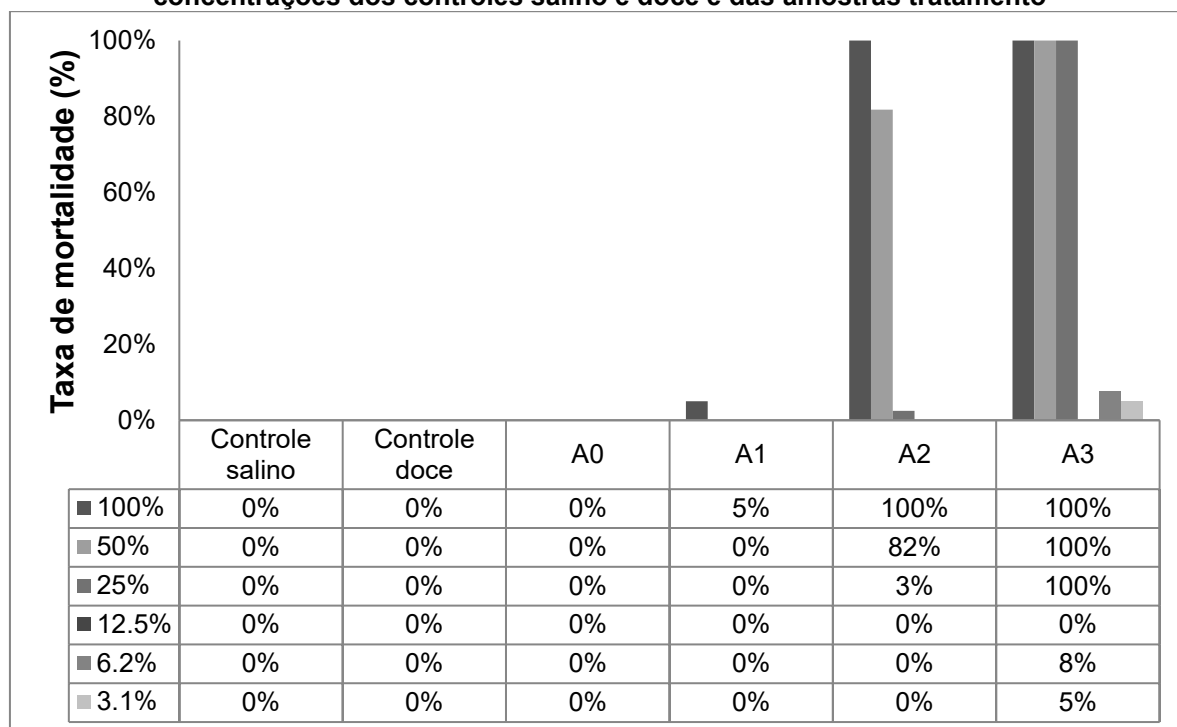
Já a amostra A1 (1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE) apresentou toxicidade na concentração de 100% (5% letalidade), sendo que esta concentração avaliada (100%) foi diferente das demais concentrações do A1, mostrando um efeito dependente da concentração. A amostra A2 (3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE) foi tóxica nas concentrações acima de 25% atingindo letalidade de todos os organismos na concentração máxima (100%). Além disso, as concentrações de 25%, 50% e 100% da amostra A2 foram diferentes das demais (3,1% a 12,5%) e, as concentrações de 50% e 100% foram diferentes da concentração de 25% de A2, mostrando um efeito dependente da concentração e um efeito tóxico bem evidente nas maiores concentrações.

Na amostra A3 (6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE) praticamente todas as concentrações foram tóxicas, sendo que apenas a de 12,5% não apresentou este efeito, com taxa de letalidade de 100% para as concentrações acima de 25%. Além disso, as maiores concentrações da A3 (25%, 50% e 100%) foram diferentes das demais (3,1% a 12,5%), mostrando um efeito dependente da concentração e novamente um efeito tóxico bem evidente nas maiores concentrações. Desta forma, como mostrado no Gráfico 1, fica evidente um efeito dose resposta da toxicidade das amostras avaliadas no presente estudo, indicando que quanto maior a concentração de LGE, maior a toxicidade.

Os dados apresentados corroboram com o estudo de Daniel *et al.* (2021), que mostraram que alguns tipos de líquidos geradores de espuma foram tóxicos para aos microcrustáceos *Artemia salina* e *Daphnia similis*, também com efeito dose-resposta. O autor ainda ressalta a importância da realização de novas pesquisas sobre a toxicidade e estimativa das concentrações de agentes extintores de incêndio que causarão algum tipo de efeito adverso aos organismos presentes no meio.



**Gráfico 1 - Taxa de mortalidade pelo ensaio de toxicidade com *Artemia salina* das diferentes concentrações dos controles salino e doce e das amostras tratamento**



A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE.

Fonte: Autoria própria (2021)

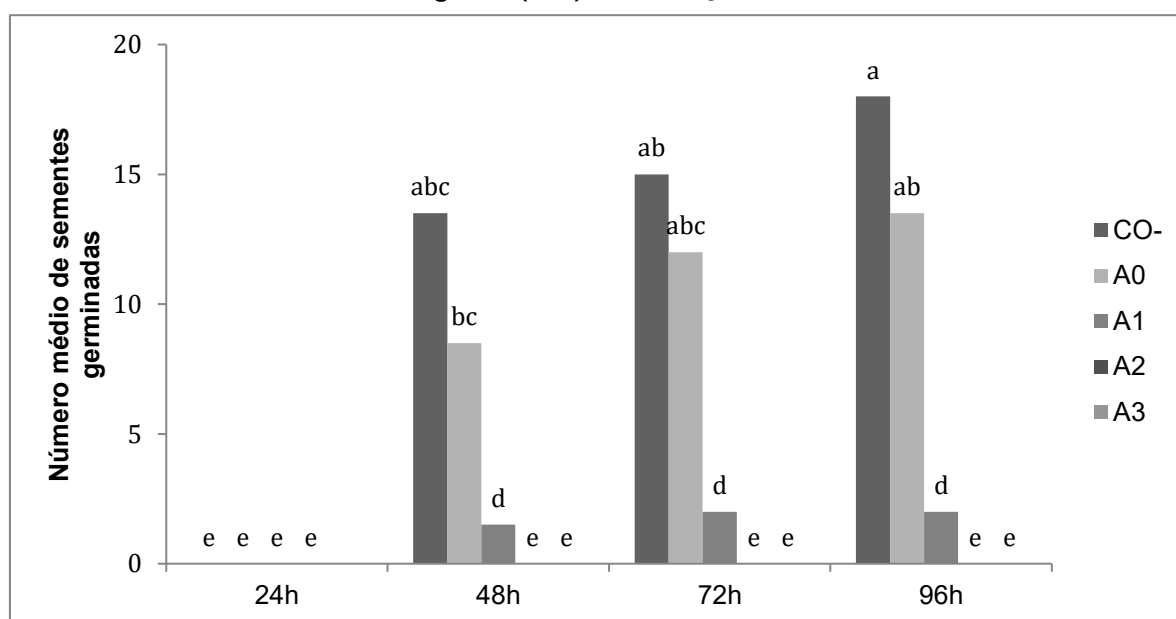
## 5.2 Germinação e crescimento inicial com *Lactuca sativa* L.

Analisando o Gráfico 2, que apresenta o número médio de sementes germinadas, pode-se perceber que somente a amostra A0 (água da SANEPAR) apresentou germinação semelhante ao controle negativo. As amostras tratamento (A1, A2 e A3) apresentaram número de sementes germinadas menor e diferente do controle negativo e da amostra A0. Além disso, somente a amostra A1 (1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE) apresentou germinação das sementes, sendo diferente das amostras A2 e A3, que não apresentaram nenhuma atividade de germinação devido a toxicidade elevada das amostras.

Com relação a porcentagem (Gráfico 3) e a velocidade de germinação (Gráfico 4) fica evidente que, com o aumento da concentração do LGE houve uma progressiva diminuição da porcentagem de sementes germinadas e da velocidade de germinação sendo que todos os tratamentos com LGE foram diferentes do controle negativo e do tratamento somente com a água da SANEPAR (A0). Além disso, a menor concentração avaliada (A1 – 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE) apresentou porcentagem e

velocidade de germinação estatisticamente diferente das maiores concentrações (A2 e A3), confirmando um efeito tóxico dose-dependente. Estes resultados devem-se, possivelmente, aos danos oxidativos e a desordem metabólica ocorrida pela exposição ao PFOS. Li *et al.* (2021) expondo a planta alface as concentrações de 5 à 50 µg/L, durante dez dias em um sistema hidropônico, mostrou que os sistemas metabólicos foram perturbados e foram observados danos oxidativos nas folhas desta planta.

**Gráfico 2 - Número médio de sementes germinadas nos quatro dias de avaliação para o controle negativo (CO) e as soluções tratamento**



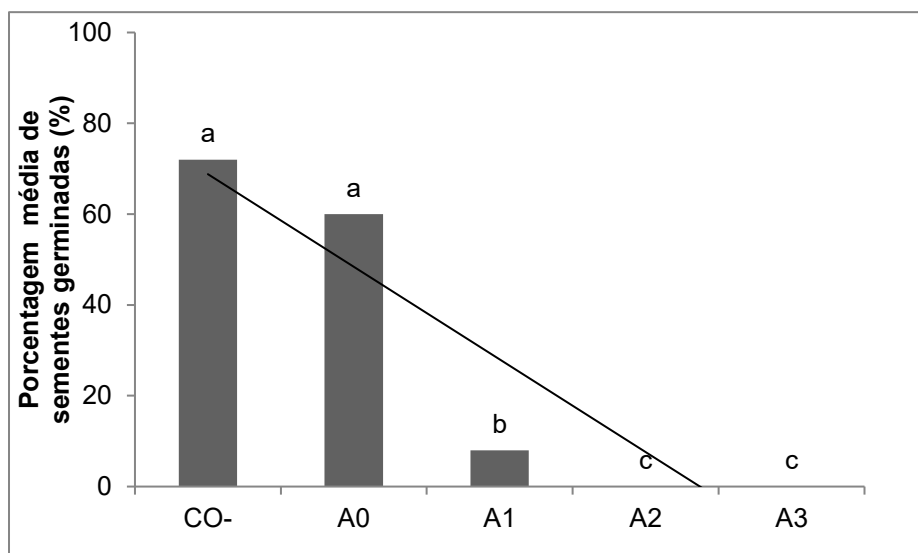
A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE..  
Colunas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

O Gráfico 5 mostra o comprimento médio das raízes de *L. sativa* durante os 4 dias de avaliação. A análise estatística mostrou que a amostra A0, água tratada da SANEPAR, não influenciou no crescimento das raízes de alface, apresentando crescimento similar ao controle negativo em todos os tempos de avaliação. Já as amostras A1, A2 e A3 apresentaram crescimento das raízes estatisticamente diferente do controle negativo e da amostra A0, em todos os tempos de avaliação, evidenciando a alta toxicidade do LGE. Entretanto, nos tempos de 48, 72 e 96 horas as amostras A2 e A3 também apresentaram tamanho médio das raízes estatisticamente menor que o tratamento com A1. Assim pode-se observar que o aumento da concentração

do LGE (da amostra A1 para a A3) inibiu ainda mais o crescimento das raízes deste bioindicador.

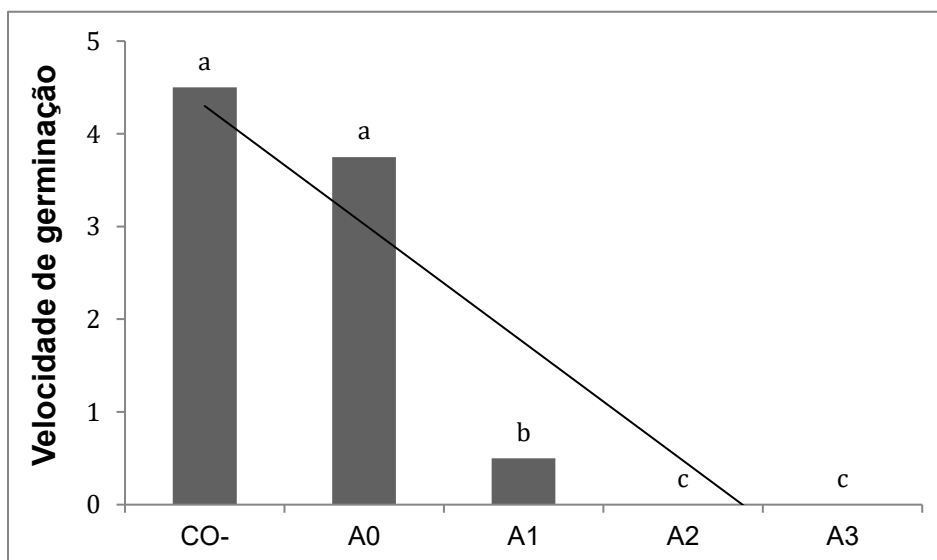
**Gráfico 3 - Porcentagem de sementes germinadas no quarto dia de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento**



A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE. Colunas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

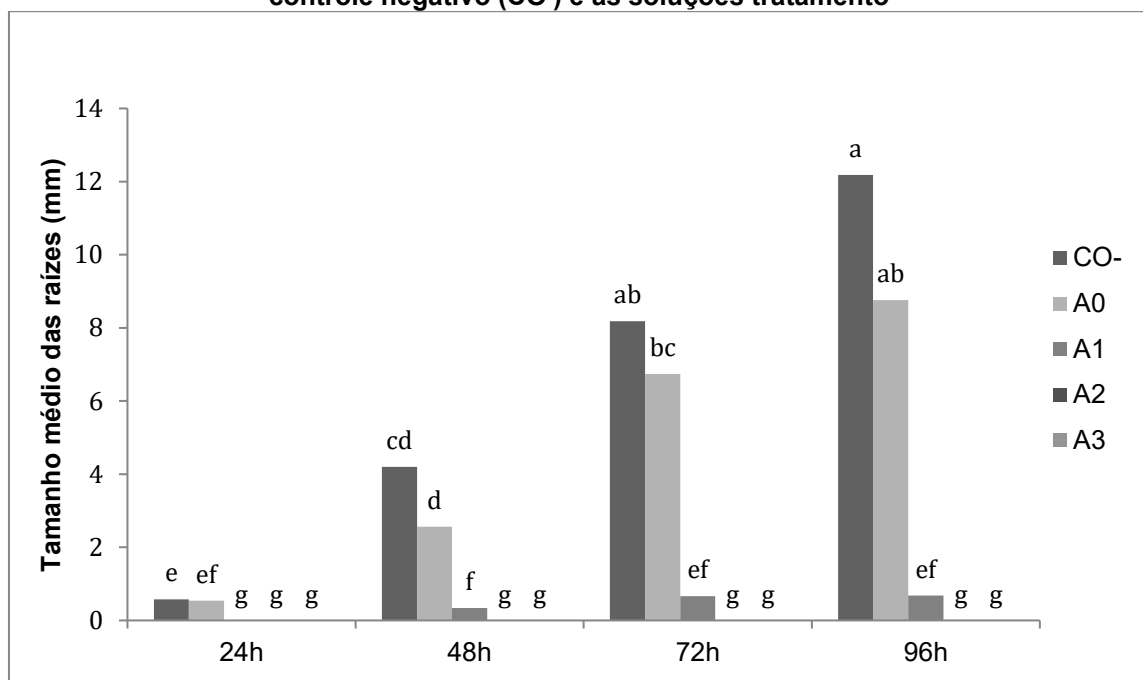
**Gráfico 4 - Velocidade de germinação no quarto dia de avaliação para o controle negativo (CO-) e as soluções tratamento**



A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE. Colunas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

**Gráfico 5 - Tamanho médio das raízes de alface (mm) nos quatro dias de avaliação para o controle negativo (CO<sup>-</sup>) e as soluções tratamento**



A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE. Colunas seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis com um nível de significância de 5%.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

Montagnolli *et al.* (2017) também comprovaram a fitotoxicidade de compostos perfluorados em sementes de alface e rúcula, que mostram que ela está relacionada com a concentração destes compostos mas, diminuiu função do tempo no ambiente, devido a baixa fitotoxicidade após 240 dias.

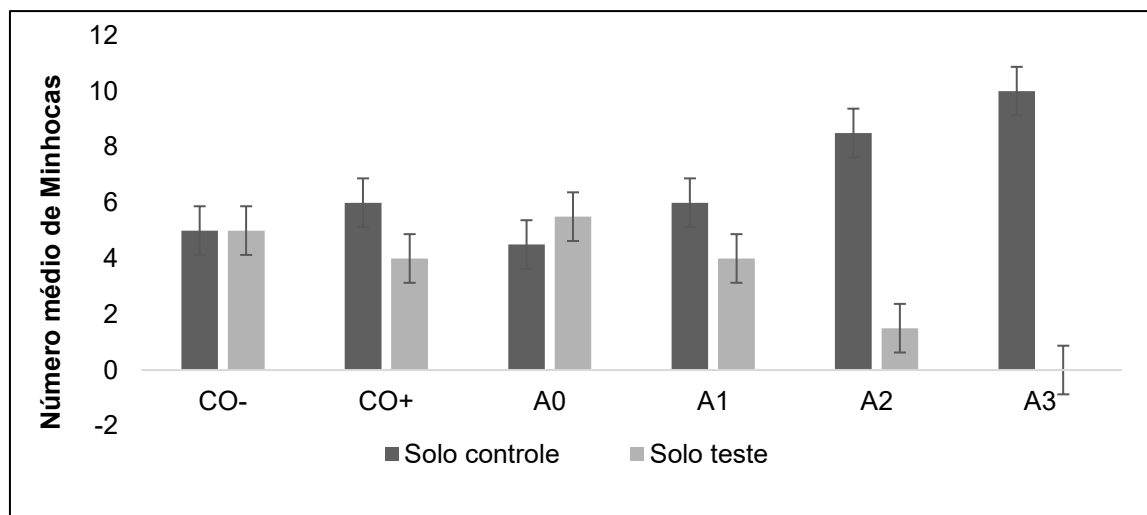
Assim, apesar de no estudo de Lesmeister *et al.* (2021) ser observado dados inconclusivos ou contraditórios com relação ao comportamento das células vegetais em contato com o PFOS, os dados do presente estudo indicam claramente um efeito adverso deste sobre a germinação e crescimento vegetal.

### 5.3 Fuga com *Eisenia fetida*

O ensaio com as minhocas é um importante bioindicador animal de toxicidade de compostos. Os resultados da distribuição dos organismos no solo controle e teste (Gráfico 6) mostram que o experimento pode ser validado, pois o controle dual manteve a taxa de distribuição de organismos em 50% para cada solo, ficando na faixa desejável que é entre 40% a 60%. Já o controle positivo (CO<sup>+</sup>) apresentou 20%

dos organismos no solo teste, com ácido bórico, estando também dentro do proposto pela ISO 17512-1 (2011).

**Gráfico 6 - Distribuição dos organismos *E. fetida* nos solos controle e teste**



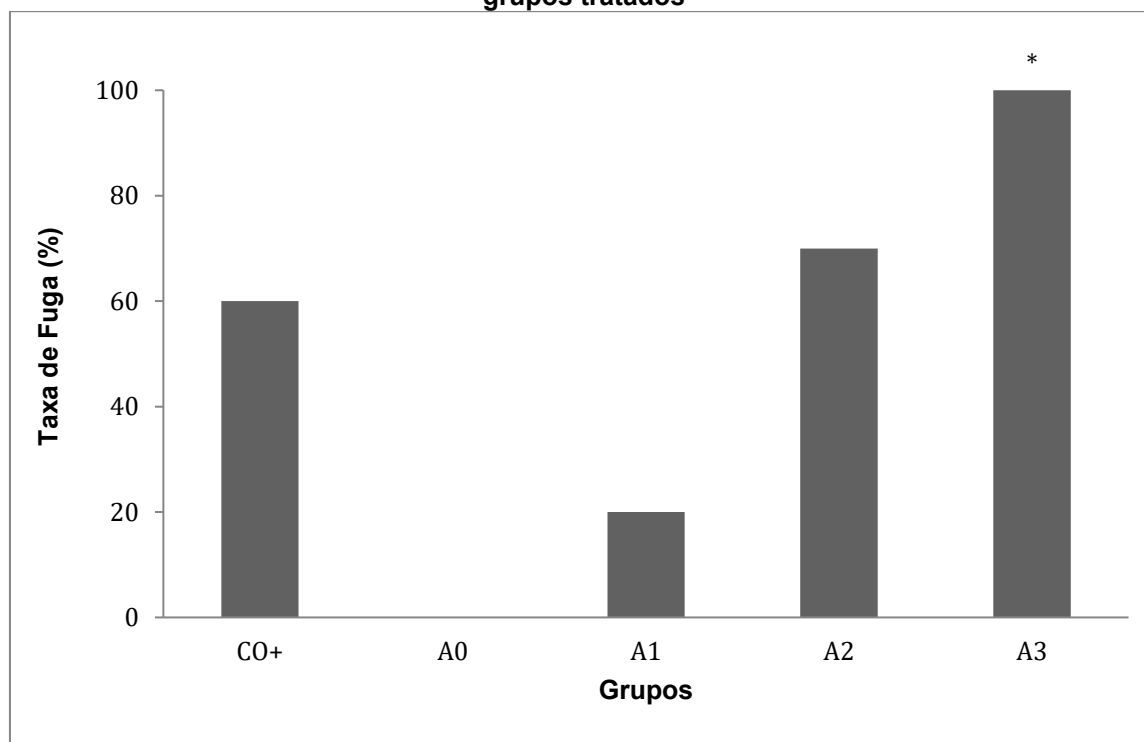
CO<sup>-</sup>: Controle negativo, CO<sup>+</sup>: Controle positivo; A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

Em relação à porcentagem de fuga (Gráfico 7), as amostras A0 e A1 não foram tóxicas ao bioindicador *E. fetida*, apresentando taxa de fuga de 0% e 20%, respectivamente. Entretanto, as amostras A2 (fuga de 70%) e A3 (fuga de 100%) foram tóxicas, pois, de acordo com a ABNT/NBR/ISO 17512-1 (BRASIL, 2011), as amostras são consideradas tóxicas quando a porcentagem de fuga for maior que 60%. Inclusive, a amostra A3 foi estatisticamente diferente do controle negativo. Para este organismo, novamente pode-se observar um efeito tóxico dose-dependente.

As minhocas em contato com o produto que contém PFOS ativam atividades antioxidantes das enzimas superóxido dismutase, peroxidase, catalase e glutatona que na sequência são inibidas, sugerindo que o PFOS induz um estresse oxidativo em minhocas e ainda alguns estudos sugerem que todas as concentrações de perfluorooctano sulfônico causem danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA) das minhocas (XU *et al.*, 2013).

**Gráfico 7 - Taxa de fuga dos organismos *E. fetida* no grupo controle positivo (CO+) e nos grupos tratados**



CO: Controle negativo, CO+: Controle positivo; A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE.

\* Resultado estatisticamente significativo pela Prova Exata de Fisher.

**Fonte: Autoria própria (2021)**

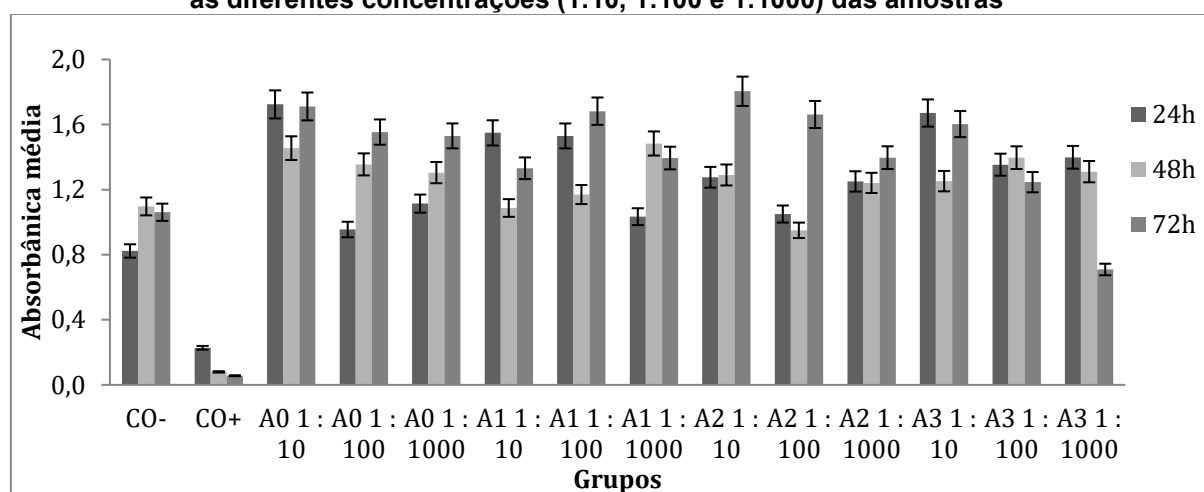
#### 5.4 Citotoxicidade com cultura de células de mamíferos

Os resultados das absorvâncias médias obtidas pelo teste do MTT com cultura de células renais normais de *Macaca mullata* (Gráfico 8) mostram que nenhuma das soluções tratamento (A0, A1, A2 ou A3) apresentaram efeito inibidor da atividade metabólica celular ou das divisões celulares. No tempo de 24 horas, na concentração de 1:10 da amostra A0 e A1 e todas as concentrações do A3, e 72 horas, na concentração de 1:10 da amostra A2, ocorreu aumento estatisticamente significativo das absorvâncias, se comparado ao controle negativo. O aumento da atividade mitocondrial e, conseqüentemente das divisões celulares, podem ser um indicativo de estresse pelo qual estas células passaram a ter contato com estas amostras, principalmente no tempo de 24 horas. Mas com o passar do tempo ele conseguiu se recuperar e estabilizar suas divisões celulares.

Mesmo estudos em animais revelando que a exposição ao PFOS pode causar diversas complicações, como mortalidade neonatal, imunotoxicidade,

neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade para o desenvolvimento e reabsorções de ninhadas, semelhante ao presente estudo, Behr *et al.* (2018) mostraram que Os PFOS não foram citotóxicos até uma concentração de 100  $\mu\text{M}$ , também pelo teste do MTT, para as linhagens humanas (HEK293T – rim embrionário humano, MCF-7 – câncer de mama humano, LNCaP – câncer de próstata humano, H295R – câncer adrenocortical humano e MDA-kb2 – câncer de mana humano).

**Gráfico 8 - Absorbância média de células normais LLC-MK2, tratadas por 24, 48 e 72 horas com as diferentes concentrações (1:10, 1:100 e 1:1000) das amostras**



CO-: Controle Negativo; CO+: Controle Positivo; A0: água da SANEPAR; A1: 1,05 g L<sup>-1</sup> de LGE; A2: 3,15 g L<sup>-1</sup> de LGE; A3: 6,30 g L<sup>-1</sup> de LGE.

\* Resultado estatisticamente diferente do controle negativo (Teste de Dunnet, p<0,05).

**Fonte: Autoria própria (2021)**

## 6 CONCLUSÕES

Os dados do presente estudo mostram que, de maneira geral, o líquido gerador de espuma possui toxicidade considerável desde a menor diluição ( $1,05 \text{ g L}^{-1}$  de LGE), com evidente efeito dose-resposta, podendo causar diversos danos no ecossistema no qual será empregado. O uso de bioindicadores de diversos níveis tróficos mostra que todos tiveram alterações ao ter contato com as amostras de LGE, salvo no teste *in vitro* com cultura de células renais, que não apresentou nenhuma alteração na atividade celular. Ainda assim, fica evidente que os organismos que mais foram afetados foi o vegetal (*L. sativa*), que evidenciou efeito tóxico do LGE desde a menor concentração ( $1,05 \text{ g L}^{-1}$  de LGE - A1), e o microcrustáceo *A. salina*, que apresentou mortalidade desde a maior concentração (100%) da amostra A1, seguido do bioindicador animal *E. fetida*, que mostrou a toxicidade das amostras A2 e A3. Assim, se fazendo necessária a educação dos profissionais que utilizam este produto, para que o usem de forma consciente, evitando contaminações desnecessárias.

Este estudo pode servir de embasamento para a elaboração de leis e políticas públicas em relação a danos ambientais irreversíveis, em consequência do uso incorreto ou demasiado deste composto, incentivando a substituição por produtos não tóxicos ao meio ambiente.

Vale ressaltar a importância da realização de mais pesquisas nesta importante área, para obtenção de dados conclusivos sobre o PFOS e suas interações com os organismos, devido a frequente mudança de composição dos compostos e a diferente formulação que varia para cada fabricante e principalmente diminuindo os riscos ecológicos.



## REFERÊNCIAS

ANDREA, M. M. O uso de minhocas como bioindicadores de contaminação de solos. **Acta Zoológica Mexicana**, São Paulo, v. 27, n.2, p. 95-107, 2010.

ARAÚJO, C. R. L., **MANUAL DE COMBATE A INCÊNDIO CBPR**, Cap 6 Comportamento do fogo, 2006.

ARIAS, A. R. L.; BUSS, D. F.; ALBURQUERQUE, C.; INÁCIO, A. F.; FREIRE, M. M; EGLER, M.; MUGNAI, R.; BAPTISTA, D. F. **Utilização de bioindicadores na avaliação de impacto e no monitoramento da contaminação de rios e córregos por agrotóxicos** Ciência & Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, v. 12, n.1, p. 61-72, 2007.

BASSO, F. G. **“AVALIAÇÃO IN VITRO DA LASERTERAPIA DE BAIXA INTENSIDADE SOBRE CULTURA DE OSTEOBLASTOS, FIBROBLASTOS E QUERATINÓCITOS SUBMETIDOS À TERAPIA COM ÁCIDO ZOLEDRÔNICO”**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. 2013.

BATCHELOR, G. K. **An Introduction to Fluid Dynamics**. In: Cambridge university press, 2000.

BEHR, A.; LICHTENSTEIN, D; BRAEUNING, A.; LAMPEN, A.; BUHRKE T.; **perfluoroalkylated substances (PFAS) affect neither estrogen and androgen receptor activity nor steroidogenesis in human cells in vitro**, Toxicology Letters, Volume 291, 2018.

BRASIL, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12615**: Sistema de combate a incêndio por espuma - Espuma de baixa expansão. 2ª ed, Rio de Janeiro: Copyright, 2020.

BRASIL, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13860**: Glossário de termos relacionados com a segurança contra incêndios. Rio de Janeiro: Copyright, 1997.

BRASIL, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13373**: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade crônica — Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: Copyright, 2017.

BRASIL, ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15511**: Líquido Gerador de Espuma (LGE), de baixa expansão, para combate a incêndios em combustíveis líquidos. Rio de Janeiro: Copyright, 2008.

CORTELLA M. S.. **Qual é a tua obra?** : inquietações propositivas sobre gestão liderança e ética. 6. ed. Petrópolis, Rio de Janeiro . Vozes, 2009

CHAGAS, A. P. **A história e a química do fogo**. Átomo, 2013.

DALTIN, D. **Tensoativos: química, propriedades e aplicações**. Edgar Blücher Ltda, 2011.

DANIEL, G.; SILVA, A.R.R.; ABESSA, D.M.S.; LOUREIRO, S. Fire Suppression Agents Combined with Gasoline in Aquatic Ecosystems: A Mixture Approach. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 767-779, 2021.

DYKSTRA, S. N. **INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DO TRITERPENO 3B,6B,16B-TRIHIDROXILUP-20(29)-ENO (TTHL) SOBRE A PROLIFERAÇÃO DE QUERATINÓCITOS HUMANOS (HACAT)**. 2013. 76 f. Dissertação (Mestrado em Farmacos, Medicamentos e Biotecnologias Aplicadas à Farmácia) - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA, Ponta Grossa, 2013.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

FICHA DE INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS, CETESB. **PFOS, PFOS-F e PFOA**. Divisão de saúde humana e saúde ambiental, 2018. Disponível em: <<https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2018/07/PFOS-PFOS-F-PFOA.pdf>>

FIGUEREDO, R. C. R.; RIBEIRO, F. A. L.; SABADINI, E. Ciências de Espumas - Aplicação na Extinção de Incêndios. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 126-130, 1999.

FILHO, R. W; LUVIZOTTO-SANTOS, R. ; VIEIRA, E. M. **Poluentes Emergentes com Desreguladores Endócrinos**, 2007. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Ricardo-Luvizotto-Santos/publication/276214267\\_Poluentes\\_Emergentes\\_como\\_Desreguladores\\_Endocrinos/links/56e950a008aefc036b3152cb/Poluentes-Emergentes-como-Desreguladores-Endocrinos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ricardo-Luvizotto-Santos/publication/276214267_Poluentes_Emergentes_como_Desreguladores_Endocrinos/links/56e950a008aefc036b3152cb/Poluentes-Emergentes-como-Desreguladores-Endocrinos.pdf)> Acessado em 02 maio 2021.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**. v. 44, n. 8, p. 1737-1747, 2001.

GRYCZAK. M.; KILIPPER, J.T.; COSTA, P.D; MACCARI, A.; Sementes De Lactuca Sativa Como Bioindicador De Toxicidade Em Resíduos De Construção Civil. (Dissertação de mestrado) - **Revista Tecnológica e Ambiente-Santa Catarina**, V. 24, 2018. Acesso em 14/11/2021.

HUND-RINKE, K.; ACHAZI, R.; RÖMBKE, J.; WARNECKE, D. Avoidance test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: results of a laboratory comparison test. **Journal of Soils and Sediments**, v. 3, p. 7-12, DOI: 10.1007/BF02989462, 2003.

LAFUENTE, A; PEREIRO, N; ECHEGARAY, N; CARRERA, L; BLANCO, A; HARDISSON, A; Moyano, R. **Alteraciones histológicas y neuroquímicas inducidas en el cuerpo estriado por la exposición a sulfonato de perfluorooctano (PFOS) / Morphological and neurochemical alterations induced in the corpus striatum by perfluorooctane sulphonate (PFOS) exposure.**

University of Córdoba, Spain. University of La Laguna, Spain . University of Vigo, Spain, 2013.

LESMEISTER, L.; LANGE, F. T.; BREUER, J.; BIEGEL-ENGLER, A.; GIESE, E.; SCHEURER, M.; **Extending the knowledge about PFAS bioaccumulation factors for agricultural plants** – A review, *Science of The Total Environment*, Volume 766, 2021.

LI, P.; SUN, J.; XIE, X.; LI, Z.; HUANG, B.; ZHANG, G.; LI, J.; XIAO, Z.; Stress response and tolerance to perfluorooctane sulfonate (PFOS) in lettuce (*Lactuca sativa*), *Journal of Hazardous Materials*, Volume 404, Part B, 2021. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, p. 124213, 15 fev. 2021.

LOPES, A.; MENDES, R. **Bombeiros anunciam fim do incêndio que atingiu Santos, SP, durante 9 dias**, São Paulo 10 de abril de 2015. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sp/santos-regiao/noticia/2015/04/bombeiros-apagam-incendio-que-atingiu-santos-sp-durante-9-dias.html>> Acesso em: 02 de maio de 2021.

HIROTA, B. C. K.; PAULA, C. S.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D **Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente à *Artemia Salina***. Visão Acadêmica, Curitiba, v.13, n.2, 2012.

MARTINS, B.A; PASTORINI, L.H.; ROBERTO, B.A.C. Extratos foliares de *Tradescantia zebrina* Heynh prejudicam a germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicum* L. **Revista Enciclopédia biosfera**, v. 10, n.19; p. 1097-1107, 2014.

MONTAGNOLLI, R. N. ; LOPES, P.R.M.; CRUZ, J.M.; CLARO, E.M.T.; QUITERIO, G.M.; BIDOIA, E.D.; The effects of fluoride based fire-fighting foams on soil microbiota activity and plant growth during natural attenuation of perfluorinated compounds. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 50, p. 119-127, 2017.

MONTAGNOLLI, R. N. **Incêndios de petróleo e pretoquímicos: biorremediação de áreas afetadas**. 2015. 267 f. Tese - (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2015. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/134062>>. Acesso em 03 maio 2021.

MOSMANN, T. **Rapid Colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays**. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.

NATIONAL FIRE PROTECTION ASSOCIATION. **NFPA 10/2013 – Standard for Portable Fire Extinguishers**. Quincy, Massachusetts, 2013.

PINTO, E. N. F, Crescimento de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) em solo oriundo de um povoamento de *Luetzelburgia auriculata* (Allemão) Ducke, **Revista**

**Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, V. 11, Nº 2, p. 33-38, Pombal-PB, 2016.

POULSEN, P. B. ;JENSEN A. A. E E. WALLSTRÖM, “**More Environmentally Friendly Alternatives to PFOS-compounds and PFOA,**” The Danish Environmental Protection Agency, Dinamarca, 2005.

RIBEIRO, D.,**Comburente**, Rev. Ciência Elem., V2(3):231, 2014. Disponível em: <https://rce.casadasciencias.org/rceapp/art/2014/231/>> Acesso em: 02 maio 2021.

RUBINGER, C. F. **Seleção de Métodos Biológicos para Avaliação Toxicologia de Efluentes Industriais**. 2009. 89 f. Dissertação (Mestrado em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

SECRETARIADO DA CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O MEIO AMBIENTE CASA INTERNACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Os nove novos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs)**, 2010. Disponível em: <<http://simat.mma.gov.br/acomweb/Media/Documentos/82caa7c7-e777-4082-8.pdf>> Acesso em: 02 maio 2021

SILVA, J. F. M., **Determinação de Ácido Perfluorooctanossulfônico (PFOS) na matriz água e biota por UPLC-MS/MS**, Técnico Lisboa, 2017.

SILVA, D. C. V. R.; POMPÊO, M.; PAIVA, T. C. B. **Ecologia de reservatórios e interfaces**. São Paulo: 2015.

SOBRINHO L. A.. **Dimensionamento de um tubo de Venturi para geração de microbolhas a ser utilizado em skimmer doméstico**. 2019. 63 f. Monografia (Graduação em Engenharia Mecânica) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

VEIGA, L. F.; VITAL, N., **Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia sp.*** In: I. A. Nascimento, E. C. P. M., Sousa & M. Nipper (ed.), Métodos em ecotoxicologia marinha. Aplicações no Brasil. Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, p.111-122, 2002,

XU, D. ; Li, C.; WEN, Y.; LIU, W., **Antioxidant defense system responses and DNA damage of earthworms exposed to Perfluorooctane sulfonate (PFOS)**, Environmental Pollution, Volume 174, 2013.