



# EMISSIONES DO BODIESEL E DIESEL E SEUS EFEITOS MUTAGÊNICOS SOBRE BIOINDICADOR VEGETAL

Deuzuita dos Santos Oliveira

Marcus Vinicius da Silva; Paula Manoel Crnkovic; Vicente Galber Freitas Viana; Antonio Moreira dos Santos; Marisa Domingos; Josmar Davilson Pagliuso

Núcleo de Engenharia Térmica e Fluidos (NETeF) da Escola de Engenharia de São Carlos EESC/Universidade de São Paulo (USP). Avenida Trabalhador São-carlense 400, Caixa Postal 369 - CEP 13560 - 970 - São Carlos - SP - Brasil. Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI)/Faculdade Integral Diferencial (FACID). Instituto de Botânica. Caixa Postal 4005, 01061 - 970 São Paulo - SP - Brasil.deuzuita@sc.usp.br

## INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, a humanidade vem se tornando cada vez mais consciente dos perigos da poluição atmosférica tanto a gerada de forma natural como a provocada por ela mesma. Atualmente a variedade de substâncias lançadas na atmosfera é muito grande e freqüentemente os veículos automotores são os principais emissores de poluentes nos centros urbanos, sendo os motores diesel considerados como os vilões. Essa emissão é composta principalmente por gases como monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrogênio (NOx), hidrocarbonetos totais (THC), óxidos de enxofre (SOx), e material particulado (MP) (CETESB 2004).

Os produtos de combustão típicos de motor diesel mostraram associações com a mortalidade por câncer de pulmão (Abbey *et al.*, 1999; Bohm *et al.*, 1983) e, segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC 1989) são potencialmente carcinogênicos aos seres humanos. O efeito carcinogênico da exposição a estes gases ocorre principalmente devido à inalação de material particulado, pois é na sua superfície que são adsorvidos os compostos policíclicos aromáticos (HPAs), considerados mutagênicos e carcinogênicos (Huisin *et al.*, 1978). Nesse contexto, o biodiesel surgiu como uma solução para minimizar a emissão de poluentes, pois desde a crise do petróleo em 1983 tem - se investigados fontes alternativas, de combustíveis renováveis (Petersen *et al.*, 1996). Estudos epidemiológicos mostram que o biodiesel é menos mutagênico que o diesel (Bunger *et al.*, 2000).

Medidas físico - químicas podem ser utilizadas para fornecer dados sobre a qualidade do ar, porém não podem ser usados para se prever os riscos aos quais os seres vivos estão sujeitos. O acompanhamento de reações mostradas por determinados seres vivos na presença de poluentes atmosféricos, metodologia denominada biomonitoramento, tem sido uma ferramenta útil e importante no fornecimento de informações rápidas e seguras quanto aos efeitos antro-

pogênicos no meio ambiente e, ainda, para prever os riscos de danos aos ecossistemas naturais e à saúde dos seres vivos expostas aos poluentes (Ardnt & Schweizer, 1991).

Há bioensaios bem padronizados com clones de plantas do gênero *Tradescantia* como o de eventos mutagênicos em pelos estaminais, denominados como bioensaio Trad - SH, no qual, os riscos mutagênicos são indicados pela mudança de coloração das células. Esses bioensaios podem ser considerados indicadores gerais de contaminação, por não responderem de maneira específica a certos poluentes atmosféricos. Porém, além de serem muito sensíveis, já mostrando reações em baixos níveis de contaminação ambiental, e rapidamente responderem aos agentes genotóxicos, foram padronizados para plantas geneticamente uniformes (clones), o que proporciona reduções na variabilidade das respostas e, conseqüentemente, uma interpretação mais segura dos resultados. São ainda de fácil execução, uma vez que não há necessidade de uso de infra - estrutura complexa de laboratório, além de serem bastante versáteis podendo ser utilizados para delimitação do potencial genotóxico de agentes presentes no ar, água e solo (Ichikawa, 1992).

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o potencial de risco mutagênico da exaustão proveniente da combustão de biodiesel e diesel, utilizando o bioensaio Trad - SH (mutação em pelos estaminais no clone KU - 20 de *Tradescantia*) como bioindicador da poluição do ar.

## MATERIAL E MÉTODOS

A planta bioindicadora utilizada nos experimentos foi o clone KU - 20 de *Tradescantia*, desenvolvida na universidade de Kyoto - Japão (Ichikawa, 1992). Nos experimen-

tos, a exaustão do motor foi diluída com ar atmosférico de modo a simular uma atmosfera poluída. Então, as inflorescências foram expostas por duas horas, dentro de uma câmara de fumigação, à exaustão do motor diesel, abastecido com biodiesel puro (B100) de soja e de nabo forrageiro e com diesel. A concentração dos poluentes na câmara de fumigação foi monitorada por meio de um analisador de gás HORIBA ENDA 1400, modelo VIA - 510.

Foram estabelecidos três grupos experimentais para uma avaliação do potencial de risco mutagênico dos combustíveis: Grupo 1 (controle): inflorescências inseridas na câmara por duas horas, porém não submetidas à exaustão do motor. Grupo 2 (diesel): Inflorescências expostas as emissões provenientes do motor abastecido com óleo diesel. Grupo 3 (biodiesel): inflorescências intoxicadas com as emissões da exaustão do motor à diesel, abastecido com biodiesel puro (B100) de soja e de nabo forrageiro.

Após a intoxicação, as inflorescências foram retiradas das câmaras e mantidas em um becker com água sob um sistema de aeração. Diariamente, à medida que as flores se abriam, estas eram coletadas e analisadas quanto ao número de eventos de mutação nos pêlos estaminais. Para se fazer à leitura ao microscópio foi feito o seguinte procedimento: primeiramente os seis estames de cada flor foram colocados lado a lado sobre uma lâmina e, sobre cada estame acrescentou - se uma gota de água. Em seguida, os pêlos estaminais foram alinhados manualmente com uma pinça de modo a facilitar sua visualização. Após este procedimento, os pêlos estaminais foram observados sob microscópio estereoscópico. Após a contagem, foi feita uma estimativa do número de eventos de mutação por 1000 pêlos estaminais. Todo esse procedimento, desde a exposição até a contagem de mutações em pêlos estaminais de *Tradescantia*, é referido comumente na literatura como bioensaio Trad - SH.

## RESULTADOS

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente onde se observou que a exaustão do motor abastecido com óleo diesel apresentou um aumento significativo de mutações em inflorescências do clone KU - 20 em relação aos grupos 1 e 3. No entanto, as inflorescências expostas as emissões do biodiesel (grupo 3) apresentaram uma frequência de mutação maior que as inflorescências do controle (grupo 1). As inflorescências expostas à emissão do diesel apresentaram um aumento percentual nas mutações em torno de 30% em relação ao grupo controle. Por sua vez, as inflorescências expostas às emissões do biodiesel apresentaram um aumento percentual nas mutações de apenas 14% em relação ao grupo controle.

Neste estudo verificou - se que o bioensaio Trad - SH foi eficiente no biomonitoramento da contaminação da exaustão do motor abastecido com biodiesel e diesel, onde foi possível reconhecer, de forma linear, os diferentes níveis de poluição provenientes do motor. Esses resultados mostram que a exaustão do motor diesel é significativa no desenvolvimento de mutações e o biodiesel apresenta um potencial mutagênico menor que o diesel. Portanto, é interessante o uso desse bioensaio para se avaliar o potencial de riscos mutagênicos aos organismos vivos expostos à exaustão dos

veículos automotores, bem como para avaliar alguns aspectos da qualidade do ar sem o uso de equipamentos de alto custo. Pode ainda ser empregado para monitorar áreas de grande extensão. Dentro da categoria de poluentes, coletivamente conhecidos como hidrocarbonetos totais (HCT), existem uma série poluente orgânicos como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e outros aos quais se pode atribuir prioritariamente os efeitos mutagênicos observados nas plantas.

## CONCLUSÃO

A exaustão do motor diesel quando abastecido com óleo diesel teve um papel significativo no desenvolvimento de mutações. No tratamento em que as inflorescências foram submetidas à emissão do biodiesel, não houve acréscimo estatisticamente significativo das mutações em pelos estaminais.

A metodologia foi adequada ao trabalho proposto. O bioensaio Trad - SH com flores estaminais do clone KU - 20 mostrou - se eficiente para avaliação do potencial de risco mutagênico dos poluentes gerados na exaustão do motor diesel.

de mutações do que quando abastecido com biodiesel, indicando que o uso do combustível renovável (biodiesel) é um excelente substituto para os combustíveis fósseis, pois reduz os riscos de saúde dos seres vivos. Embora os bioensaios com plantas não possam ser extrapolados diretamente para os seres humanos, não se devem desconsiderar esses resultados, pois os mesmos dão uma idéia do risco aos quais os seres vivos estão expostos. Testes comparativos com outros combustíveis podem revelar - se importantes em uma avaliação mais completa dos impactos ambientais provocados pelo uso dos transportes.

## AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos a Capes pelo suporte nesta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- Abbey, D.E., Nishino, N., McDonnel, W.F., Burchette, R.J., Knutsen, S.F., Beeson, W.L. and Yang, J.X., 1999, "Long - term inhalable particles and other air pollutants related to mortality in nonsmokers", *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 159, No. 2, pp 373 - 382.
- Ardnt, U. and Schweizer, B., 1991, "The use of bioindicators for environmental monitoring in tropical and subtropical counties", In: *biological monitoring: Signals from the environmental* (Ellenberg *et al.*, eds.), Vieweg, Eschborn, pp.199 - 298.
- Bohm, G.M., Massad, E., Saldiva, P.H.N., Gouveia, M.A., Pasqualacci, C.A., Cardoso, L.M.N., Caldeira, M.P.R. and Calheiros, D.F., 1983, "Comparative toxicity of alcohol and gasoline fueled automobile exhaust fumes", In: *developments in the science and practice of toxicology* (HAYES, A. W., Schnell, R.C. and Miya, T.S. eds) Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 479 - 482.
- Bunguer, J., Muller, M.M., Krahl, J., Baum, K., Weigel, A., Hallier, E. and Schulz, T.G., 2000, "Mutagenicity of

diesel exhaust particles from two and two plant oil fuels, *Mutagenesis*, vol. 15, No. 5, pp. 397 - 397.

CETESB 2004. Relatório da qualidade do ar no estado de São Paulo. Disponível em: [www.cetesb.sp.gov.br](http://www.cetesb.sp.gov.br).

Huising, J., Bradow, R., Jungers, R., Claston, L, Zweidings, R., Tejada, S., Bumgarner, J., Duffield, F. and Waters, M., 1978, "Application of bioassay to the characterization of diesel particle emissions", In. Waters, M.D., Nesnow, S., Hisings, J.L., Sandhu, S.S., Claxton, L.D. (eds), *Application of Short - term Biossay in the Fractionation and Analysis of Complex, Enviromental Mixtures*, Plenum Press, New York, pp. 382 - 418.

IARC, 1989, "IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, vol. 46, Diesel and

Gasoline Engine Exhausts and Some Nitroarenes, IARC, Lyon, pp. 41 - 185.

Ichikawa, S., 1992, "Tradescantia stamen - hair system as an excellent botanical tester of mutagenicity its responses to ionizing radiation and chemical mutagens, and some synergistic effects found", *Mutation research.*, vol. 270, pp. 3 - 22.

Petersen, C.I., Hammnod, B.L. and Reece, D.L., 1996, "Engine performance and emissions with methyl and ethyl esters of rapeseed oil" In. *Proceedings of the Third Liquid Fuel Conference, "Liquid Fuels and Industrial Products from Renewable Resouces*, ASAE, St Joseph, MI, pp. 116 - 127.