



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Claudia Ramos de Rainho Ribeiro

Exposição ao material particulado 2,5 µm coletado em vias de alto tráfego da cidade do Rio de Janeiro: avaliação mutagênica, genotóxica e determinação de risco à saúde induzido por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Rio de Janeiro

2012

Claudia Ramos de Rainho Ribeiro

Exposição ao material particulado 2,5 µm coletado em vias de alto tráfego da cidade do Rio de Janeiro: avaliação mutagênica, genotóxica e determinação de risco à saúde induzido por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Israel Felzenszwalb

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Claudia Alessandra Fortes Aiub

Rio de Janeiro

2012

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R484 Ribeiro, Cláudia Ramos de Rainho.
Exposição ao material particulado 2,5 µm coletado em vias de alto tráfego da cidade do Rio de Janeiro: avaliação mutagênica, genotóxica e determinação de risco à saúde induzida por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos / Cláudia Ramos de Rainho Ribeiro. – 2012.
123 f.

Orientador: Israel Felzenszwalb.

Coorientadora: Cláudia Alessandra Fortes Aiub.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Programa de Pós-graduação em Biociências.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – Teses. 2. Medição de risco. 3. Material particulado. 4. Salmonella Typhimurium – Teses. 5. Testes de Mutagenicidade. 6. Cebolas. I. Felzenszwalb, Israel. II. Aiub, Cláudia Alessandra Fortes. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. IV. Título.

CDU 575.24:574

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Claudia Ramos de Rainho Ribeiro

Exposição ao material particulado 2,5 µm coletado em vias de alto tráfego da cidade do Rio de Janeiro: avaliação mutagênica, genotóxica e determinação de risco à saúde induzido por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração em Biociências.

Aprovado em 15 de fevereiro de 2012

Orientador: _____

Prof. Dr. Israel Felzenszwalb
Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes - UERJ

Banca Examinadora: _____

Prof^a. Dra. Mônica Regina da Costa Marques
Instituto de Química – UERJ

Prof^a. Dra. Vera Maria Ferrão Vargas
Fundação Estadual de Proteção Ambiental Henrique Luiz Roessler - FEPAM

Prof. Dr. Annibal Duarte Pereira Netto
Universidade Federal Fluminense - UFF

Rio de Janeiro
2012

DEDICATÓRIA

Ao meu pai

Vilson Rainho (*in memoriam*)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu amor e proteção em todos os momentos. As intercessões de Nossa Senhora Aparecida e a de São José.

Aos meus pais por serem exemplos de simplicidade, determinação e perseverança.

Ao meu marido pelo companheirismo e compreensão.

Ao professor Israel Felzenszwalb pela orientação.

À professora Claudia Aiub pela co-orientação neste trabalho.

Ao professor José Luiz Mazzei pela colaboração neste trabalho.

Ao professor Sérgio Machado Corrêa pela colaboração neste trabalho.

À professora Mônica Regina da Costa Marques pela revisão desta dissertação.

À mestre Ana Maria Azevedo Velho pela participação neste trabalho, pela amizade e pelas ótimas dicas.

As doutorandas Andréia Fernandes e Andrea Kaezer pela amizade e boas conversas.

Aos mestrandos Vanessa, Francisco, Raphael e Felipe pela amizade e pelas boas risadas.

A todos os alunos de iniciação científica, em especial ao Eduardo José Freitas e ao Antônio Guerra pelo auxílio durante as coletas do Túnel Rebouças, preparação de meios e extratos.

As amigas do coração Ana Paula Freitas, Fernanda Paz e Liliane Araújo.

À CET-Rio, Secretaria Municipal de Educação e a direção do IBRAG pelas autorizações das instalações dos amostradores de grande volume.

À FAPERJ pelo financiamento deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

Ao CNPq.

O dia mais belo? Hoje
A coisa mais fácil? Equivocar-se
O obstáculo maior? O medo
O erro maior? Abandonar-se
A raiz de todos os males? O egoísmo
A distração mais bela? O trabalho
A pior derrota? O desalento
Os melhores professores? As crianças
A primeira necessidade? Comunicar-se
O que mais faz feliz? Ser útil aos demais
O mistério maior? A morte
O pior defeito? O mau humor
A coisa mais perigosa? A mentira
O sentimento pior? O rancor
O presente mais belo? O perdão
O mais imprescindível? O lar
A estrada mais rápida? O caminho correto
A sensação mais grata? A paz interior
O resguardo mais eficaz? O sorriso
O melhor remédio? O otimismo
A maior satisfação? O dever cumprido
A força mais potente do mundo? A fé
As pessoas mais necessárias? Os pais
A coisa mais bela de todas? O amor

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

RIBEIRO, Claudia Ramos Rainho. *Exposição ao material particulado 2,5 µm coletado em vias de alto tráfego da cidade do Rio de Janeiro: avaliação mutagênica, genotóxica e determinação de risco à saúde induzido por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos*, 2012. 123 f. Dissertação (Mestrado em Biociências)-Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

A mutagenicidade do material particulado é atribuída primeiramente aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). Investigamos a atividade mutagênica do material particulado (MP_{2,5}) em amostras coletadas em três pontos da cidade do Rio de Janeiro. As coletas foram realizadas com auxílio de um amostrador de grande volume na Avenida Brasil, no campus da Universidade do Estado do Rio de Janeiro e no Túnel Rebouças em filtros de fibra de vidro. Metade de cada filtro foi submetido à extração por sonicação com o solvente diclorometano. Seis HPA foram identificados e quantificados por cromatografia gasosa com espectrometria de massa (GC/MS). Após a análise química as concentrações dos HPA obtidos foram correlacionados aos fatores físicos, além de ser realizada avaliação de risco para cada HPA estudado. Linhagens de *Salmonella typhimurium* (TA98 e derivadas TA98/1.8-DNP₆, YG1021 e YG1024) foram utilizadas no ensaio de mutagenicidade e tratadas (10-50 µg/placa) com extrato orgânico na presença e na ausência de metabolização exógena. Células de raiz de cebola foram tratadas com extratos orgânicos nas concentrações (5-25 µg/mL). A alta umidade encontrada no Túnel Rebouças pode ter influenciado na deposição de cinco dos seis HPA estudados em material particulado. Além disso, em diferentes condições de tráfego, motoristas de ônibus que cruzam a Avenida Brasil e o Rebouças túnel estão expostos ao risco induzidos por HPA na ordem de 10⁻⁶. Mutagenicidade foi detectada tanto na presença quanto na ausência de metabolização, para as linhagens YG1021 e YG1024 nos três pontos, sugerindo a presença de nitro e amino derivados de HPA. As amostras do Túnel Rebouças apresentaram os maiores valores para rev/µg e rev/m³. Estes resultados podem estar relacionados ao longo trajeto e a restrita ventilação. Efeito citotóxico foi detectado pelo ensaio *Allium cepa* nos três pontos de monitoramento. Além disso os extratos orgânicos provenientes das coletas da Avenida Brasil, UERJ e do Túnel Rebouças induziram efeito clastogênico em células de raiz de *Allium cepa*.

Palavras-chave: Material Particulado Respirável. HPA. Avaliação de Risco. *Salmonella/microsoma*. Mutagenicidade. *Allium cepa*.

ABSTRACT

The mutagenicity of airborne particles from combustion is attributed primarily to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). We investigated the mutagenic activity of particulate matter (PM_{2.5}) samples collected from three sites in Rio de Janeiro. Samples were collected using a high-volume sampler at Avenida Brasil, the campus of the Rio de Janeiro State University, and Rebouças tunnel. Half of each filter was submitted to sequential extraction by sonication with dichloromethane. Six PAHs were quantified by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Salmonella typhimurium* TA98 and the derivative strains TA98/1.8-DNP₆, YG1021 and YG1024 used in mutagenicity assays were treated (10-50 µg/plate) with and without exogenous metabolization. Onion root cells were treated with organic extracts concentrations (5-25µg/mL). The high humidity detected in the Rebouças Tunnel may have influenced the deposition of five of the six PAHs studied in particulate matter. Moreover, in different traffic conditions can put the bus drivers that cross the Brasil Avenue and Rebouças tunnel at the risk of exposure induced by HPA in the order of 10⁻⁶. Independently of exogenous metabolization, mutagenicity was detected for strains YG1021 and YG1024 at all the sites, suggesting the presence of nitro and amino derivatives of PAHs. Rebouças tunnel presented the highest values for rev/µg and rev/m³. These could be related to the fact that this long, enclosed passageway and restricts ventilation. Cytotoxic effect was detected by the *Allium cepa* test in the three monitoring sites. Also organic extracts from Brazil Avenue, UERJ and Rebouças Tunnel showed clastogenic effect in *Allium cepa* roots.

Keywords: Respirable particulate matter. PAHs. Risk Assessment. *Salmonella/microsome* assay. Mutagenicity. *Allium cepa* test.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Classificação das partículas de acordo com o seu diâmetro aerodinâmico	17
Quadro 2	Valores limites legais para a concentração de MP10 e MP2,5 em $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para coletas de 24h	17
Figura 1	Representação da formação de HPA por meio de pirólise	18
Figura 2	Representação simplificada do metabolismo de um HPA	20
Quadro 3	HPA prioritários para pesquisa em compartimentos ambientais e sua classificação quanto à carcinogenicidade	21
Figura 3.	Imagem de satélite dos três pontos monitorados (em vermelho) no município do Rio de Janeiro	27
Figura 4	Amostrador de Grande Volume – AGV MP 2,5 μm instalado na Avenida Brasil	29
Quadro 4	Características genotípicas relevantes das linhagens de <i>Salmonella typhimurium</i> utilizadas nos ensaios de mutagenicidade e de citotoxicidade	33
Figura 5	Cariótipo de <i>Allium cepa</i> 2n = 16	33
Figura 6	(A-C). Concentração dos HPA em ng/m^3 nos três pontos de estudo	37
Figura 7	(A-D). Fatores Físicos obtidos para o município do Rio de Janeiro, e para o Túnel Rebouças no período de estudo	38
Figura 8	Fases do ciclo celular: A (intérfase); B (prófase); C (metáfase); D (anáfase); E (telófase)	42
Figura 9	Figura 9. Anormalidades cromossômicas: A (micronúcleo); B (ponte); C (quebra); D (três atrasos e uma ponte), induzidas após exposição aos extratos orgânicos	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características das coletas realizadas nos três pontos de estudo.....	35
Tabela 2	Cálculo de risco em relação aos HPA detectados, para motoristas de ônibus que trafegam pela Avenida Brasil e pelo Túnel Rebouças em diferentes condições de trânsito.....	39
Tabela 3	Atividade mutagênica em rev/ μg induzida pelos extratos orgânicos de MP 2,5 μm , coletados nos três pontos de estudo.	40
Tabela 4	Atividade mutagênica em rev/ m^3 induzida pelos extratos orgânicos de MP 2,5 μm , coletados nos três pontos de estudo.	41
Tabela 5	Índice mitótico, percentual de cada fase mitótica e percentual de cada anormalidade cromossômica induzidos pelos extratos orgânicos oriundos da Avenida Brasil.....	43
Tabela 6	Índice mitótico, percentual de cada fase mitótica e percentual de cada anormalidade cromossômica induzidos pelos extratos orgânicos oriundos da UERJ.....	44
Tabela 7	Índice mitótico, percentual de cada fase mitótica e percentual de cada anormalidade cromossômica induzidos pelos extratos orgânicos oriundos do Túnel Rebouças.....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AGV	Amostrador de Grande Volume
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CET-Rio	Companhia de Engenharia de Tráfego do Rio de Janeiro
CIEP	Centro Integrado de Educação Pública
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsufóxido
FPE	Fator de Potência Equivalente
FUNDER-RJ	Fundação do Departamento de Estrada e Rodagens do Rio de Janeiro
GEIPOT	Inventariança da Extinta Empresa Brasileira de Planejamento de Transporte
GIT	Gerência de Informações de Tráfego
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
INEA	Instituto Estadual do Meio Ambiente
I.M.	Índice Mitótico
INMET	Instituto de Metereologia
MP	Material Particulado
MOE	Matéria Orgânica Extraída
NHPA	Nitro-Hidrocarboneto Policíclico Aromático
OMS	Organização Mundial de Saúde
Oxi-HPA	Oxi-Hidrocarboneto Policíclico Aromático
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
USEPA	Agência de Proteção Norte Americana

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1	MATERIAL PARTICULADO	16
1.1	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – HPA	18
1.2	Avaliação de Risco	22
1.3	Justificativa	22
2	OBJETIVOS	23
2.1	Objetivo Geral	23
2.2	Objetivos Específicos	23
3	MATERIAIS E MÉTODO	24
3.1	Pontos de Estudo	24
3.1.1	<u>Avenida Brasil</u>	24
3.1.2	<u>Campus da Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ</u>	25
3.1.3	<u>Túnel Rebouças</u>	25
3.2	Coleta e Extração do Material Particulado	28
3.3	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM)	29
3.4	Fatores Físicos	30
3.5	Cálculo de Risco	30
3.6	<i>Salmonella/microsoma</i> e Teste de Citotoxicidade	32
3.7	Teste utilizando <i>Allim cepa</i>	33
4	RESULTADOS	35
4.1	Material Particulado MP_{2,5}µm	35
4.2	Análise dos Hidrocarbonetos Aromáticos (HPA)	36
4.3	Cálculo de Risco	39
4.4	<i>Salmonella/microsoma</i>	39

4.5	Teste utilizando <i>Allium cepa</i>	42
5	DISCUSSÃO	47
5.1	Material Particulado MP2,5µm	47
5.2	Análise dos Hidrocarbonetos Aromáticos (HPA)	48
5.3	Cálculo de Risco	49
5.4	<i>Salmonella</i>/microssoma	50
5.5	Teste utilizando <i>Allium cepa</i>	51
6	CONCLUSÕES	54
	REFERÊNCIAS	55
	APÊNDICE A - Tabelas 7 à 24 - Atividade mutagênica para amostras coletadas nos três pontos de estudo no período de abril a outubro de 2010..	63
	APÊNDICE B – Health risk prediction induced by polycyclic aromatic hydrocarbons present in respirable urban airborne in Rio de Janeiro (Brazil)	81
	APÊNDICE C – Relato de Experiência : A Educação Ambiental como Instrumento de Sensibilização quanto aos Malefícios da Poluição Atmosférica	106
	ANEXO - Popularização da Ciência	119